

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Microbiología I



TESIS DOCTORAL

**El gen de la obesidad PC-1: estudio del alelo de susceptibilidad en
amerindios y otras poblaciones del mundo**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

María Mercedes Fernández Honrado

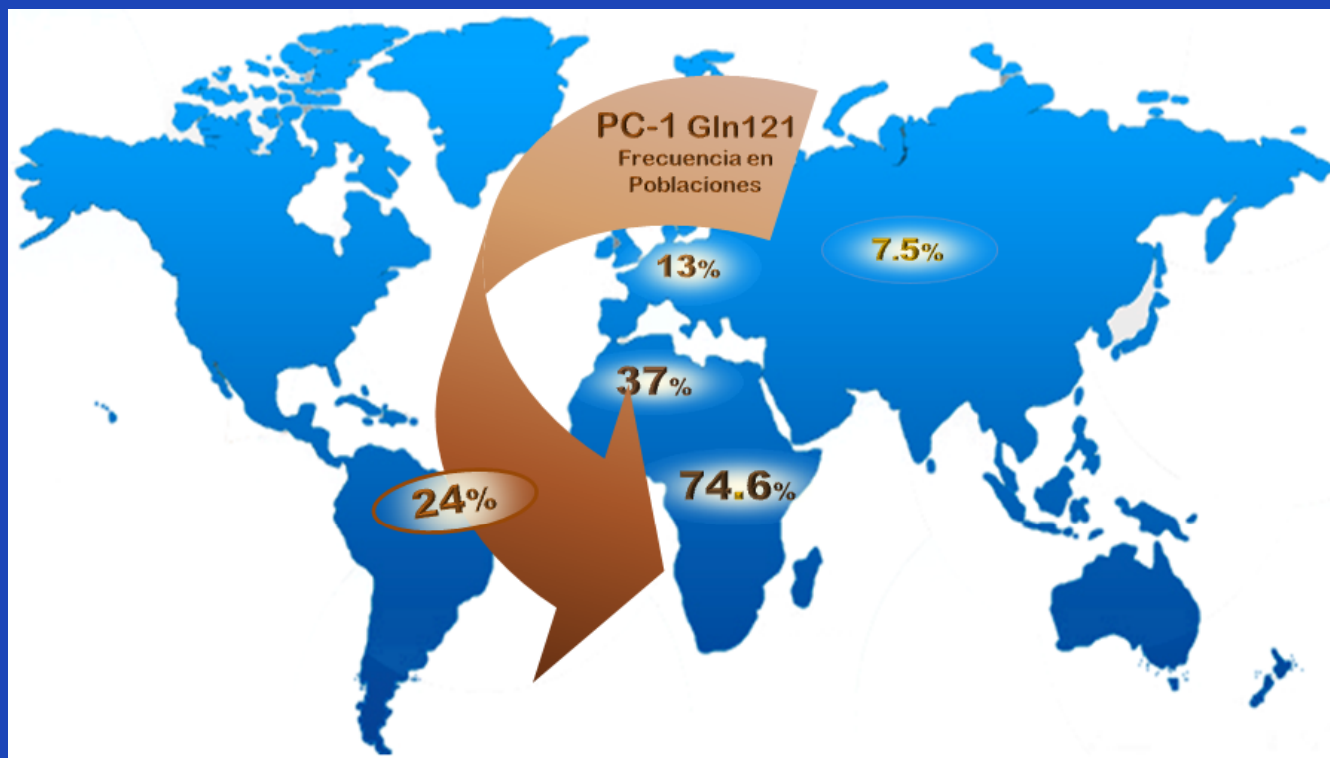
Director

Antonio Arnaiz Villena

Madrid, 2017

TESIS DOCTORAL

EL GEN DE OBESIDAD PC-1:
ESTUDIO DEL ALELO DE SUSCEPTIBILIDAD EN
AMERINDIOS
Y
OTRAS POBLACIONES DEL MUNDO



Universidad Complutense de Madrid

Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología I (Inmunología)



TESIS DOCTORAL

**EL GEN DE OBESIDAD PC-1:
ESTUDIO DEL ALELO DE SUSCEPTIBILIDAD
EN
AMERINDIOS Y OTRAS POBLACIONES DEL MUNDO**

MARÍA MERCEDES FERNÁNDEZ HONRADO

Madrid, Junio 2015

Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Medicina
Departamento de Microbiología I (Inmunología)

**EL GEN DE OBESIDAD PC-1:
ESTUDIO DEL ALELO DE SUSCEPTIBILIDAD
EN
AMERINDIOS Y OTRAS POBLACIONES DEL MUNDO**

Memoria presentada por María Mercedes Fernández Honrado, Licenciada en Medicina y Cirugía, Especialista en Hematología y Hemoterapia para optar al grado de Doctora en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid.

Madrid, Junio de 2015



El trabajo presentado en esta Tesis Doctoral ha sido realizado en el Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid bajo la dirección del Dr. D. Antonio Arnaiz Villena, Coordinador I+D del Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid y Catedrático de Inmunología de la Universidad Complutense de Madrid.

Este estudio fue apoyado en parte por becas de Ministerio de Sanidad (FISS PI051039 y PI080838) y Ministerio de Asuntos Exteriores de España (A/9134/07 y A/17727/08) y tres becas distintas de la Mutua Madrileña Automovilista.

*Nada tiene sentido en Evolución si no es a la luz de la
Genética de poblaciones.*

Michael Lynch

TESIS DOCTORAL

TÍTULO:

El Gen de Obesidad PC-1: Estudio del alelo de susceptibilidad en amerindios y otras poblaciones del mundo.

AUTOR:

María Mercedes Fernández Honrado

DIRECTOR:

Prof. Dr. Antonio Arnaiz Villena

Coordinador I+D, Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid
Catedrático de Inmunología, Universidad Complutense de Madrid

LUGAR DE REALIZACIÓN:

Departamento de Investigación y Desarrollo

Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid

Don Antonio Arnaiz Villena, Coordinador I+D del Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid y Catedrático de Inmunología de la Universidad Complutense de Madrid

CERTIFICA

Que doña María Mercedes Fernández Honrado ha realizado bajo su dirección el trabajo de Tesis Doctoral que lleva por título: *El Gen de Obesidad PC-1: Estudio del alelo de susceptibilidad en amerindios y otras poblaciones del mundo.*

Revisado el presente trabajo, considero que tiene la debida calidad para su defensa y calificación.

Prof. Dr. Antonio Arnaiz Villena

Dedicatoria

**A mi padre (ya ausente) y mi madre, por
apoyar mi decisión de ser médico y
continuar haciéndolo, en los avatares surgidos.**

A mi hermana, por su cariño y apoyo.

Agradecimientos

En primer lugar y, ante todo, al Dr. Antonio Arnaiz Villena, quien desde el comienzo, ha confiado que podía llevar a término este trabajo, a pesar de las dificultades inherentes a su realización, por coexistir durante un periodo de tiempo con mi labor asistencial como médico hematólogo.

Ha sido mi tutor e impulsor siempre, especialmente en la última etapa, permitiéndome lograr mi antiguo deseo de presentar la Tesis Doctoral en "*mi Facultad de Medicina*".

A mis compañeros integrantes del equipo del Dr. Arnaiz Villena, en el Centro de Transfusión: Diego Rey, Cristina Areces, Mercedes Enríquez de Salamanca y Ester Muñiz, sin cuya inestimable y desinteresada ayuda, este trabajo no hubiera podido efectuarse.

A mis compañeros del Centro de Transfusión de Madrid:

Por facilitar la realización del estudio y a la Dra. Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil por participar en la captación de donantes amerindios.

Al Centro de Transfusión, mi anterior lugar de trabajo, por mantener siempre sus puertas abiertas y posibilitar la realización del estudio.

A l@s ENFERMER@S de colectas de sangre, por su buen hacer cotidiano con los donantes y su colaboración imprescindible para la extracción de las donaciones y muestras.

Y como no, a los DONANTES DE SANGRE AMERINDIOS atendidos que, no solo brindaron su donación altruista sino que gustosamente aceptaron participar en el estudio.

A todos, **GRACIAS.**

Índice

SUMMARY	XXI
1- INTRODUCCIÓN	1
1. OBESIDAD	1
1.1 DEFINICIÓN DE OBESIDAD	3
1.2 OBESIDAD Y PATOLOGÍAS DERIVADAS	4
1.3 PATOGENIA DE LA OBESIDAD	7
1.4 LA IMPORTANCIA ACTUAL DE LA OBESIDAD EN PATOLOGÍAS	9
1.5 GENES "AHORRADORES" DE ENERGÍA ("THRIFTY GENES"). DIFERENTES HIPÓTESIS	12
1.6 MEDICINA EVOLUTIVA DE LOS GENES AHORRADORES	14
2. ASIGNACIÓN INDIVIDUAL de obesidad de las distintas poblaciones: "globesity"	16
2.1 LA OBESIDAD EN LOS AMERINDIOS: SU DEFINICIÓN	17
3. SÍNDROME METABÓLICO	18
3.1 DEFINICIÓN: ENTIDAD FISIOPATOLÓGICA	18
3.2 RELACIÓN DEL SÍNDROME METABÓLICO CON LA OBESIDAD. CIRCUNFERENCIA DE LA CINTURA	19
3.2.1 EVOLUCIÓN HISTÓRICA DEL CONCEPTO DE SÍNDROME METABÓLICO	19
3.2.2 PERÍMETRO DE CINTURA Y OBESIDAD	22
4. LOS GENES DE OBESIDAD Y SU HERENCIA	23
4.1 GENES RELACIONADOS CON SÍNDROME METABÓLICO Y OBESIDAD	24
5. EL GEN PC-1 (ENPP/PC-1) Y LA GLICOPROTEÍNA DE MEMBRANA PC-1	26
5.1 LA GLICOPROTEÍNA DE MEMBRANA PC-1	26
5.2 EL GEN PC-1: ECTONUCLEOTIDE PYROPHOSPHATASE / PHOSPHODIESTERASE 1/ PLASMA CELL MEMBRANE GLYCOPROTEIN PC-1 (ENPP1 / PC-1 humano). SU FUNCIÓN	27
5.3 PATOLOGÍA DEL GEN PC-1: PC-1 Gln 121, ALELO "ENFERMO"	29
5.4 HERENCIA POLIGÉNICA o MULTIFACTORIAL	30
5.5 FACTORES EXTERNOS: CAMBIOS DE ALIMENTACIÓN HUMANA Y SOBREALIMENTACIÓN	31
5.6 MEDICINA EVOLUTIVA Y NUTRICIÓN	32
5.7 SEDENTARISMO	33
6. EL SISTEMA HLA	35
6.1 CONCEPTO	35
6.2 ESTRUCTURA DE LAS MOLÉCULAS DEL CMH	36
6.3 NOMENCLAURA DE LOS GENES HLA	39
7. EL SISTEMA HLA EN AMERINDIOS	41
7.1 AMERINDIOS EN LA COMUNIDAD DE MADRID	41
2- OBJETIVOS	45
OBJETIVOS	47
3- MATERIAL Y MÉTODOS	49
MATERIAL. MUESTRA AMERINDIA DE POBLACIÓN ESTUDIADA	51
MÉTODOS:	52
3.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS	52
3.2 MEDIDA DE LA CIRCUNFERENCIA O PERÍMETRO DE LA CINTURA	52
3.3 MUESTRAS DE SANGRE. ESTUDIOS REALIZADOS:	52
3.3.1 TRAZABILIDAD DE LA MUESTRA	52
3.3.2 PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN PLASMA	54
3.3.2 ESTUDIO GENOTÍPICO DEL GEN PC-1	54
3.3.3.1 EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO DE LOS LEUCITOS	54
3.3.3.2 AMPLIFICACIÓN DEL ADN. Técnica de Reacción en cadena de polimerasa (PCR)	56
3.3.3.3 ELECTROFORESIS ESPECÍFICA DE LOS ALELOS DE PC-1	53
3.3.3.4 PURIFICACIÓN DE LOS ALELOS DE PC-1	57
3.3.3.5 SECUENCIACIÓN	58
3.3.2.6 DETERMINACIÓN DEL POLIMORFISMO PC-1	58

3.4 DETECCIÓN DE ALELOS HLA	59
3.4.1 GENOTIPADO HLA. PCR-SSP: (METODOLOGÍA Luminex®)	59
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	60
3.5.1 EVALUACION DE PROCEDIMIENTOS DIGNOSTICOS	60
3.5.2 EL ANALISIS ROC. AREA BAJO LA CURVA ROC	61
3.5.3 ANÁLISI ROC APLICADO PARA ESTABLECER EL PUNTO DE CORTE (CUT-OFF) DEL PERÍMETRO DE CINTURA EN AMERINDIOS	61
3.5.4 MÉTODOS ESTADÍSTICOS EMPLEADOS	61
4- RESULTADOS	65
4.1 PERIMETRO DE CINTURA EN AMERINDIOS	67
4.2 DATOS GLOBALES DEL ESTUDIO	69
4.2.1 DATOS GLOBALES DEL ESTUDIO EN MUJERES	69
4.2.2 DATOS GLOBALES DEL ESTUDIO EN HOMBRES	72
4.3 ASOCIACIÓN Lys/Gln EN LA POBLACIÓN AMERINDIA "TOTAL" OBESOS Y NO OBESOS CON PARAMETROS BIOQUIMICOS Y ANTROPOMÉTRICOS	76
4.4 NO ASOCIACIÓN Lys/Gln EN AMERINDIOS OBESOS Y NO OBESOS	77
4.5 MODOS DE TESTAR LA SUSCEPTIBILIDAD A LA HERENCIA A LA OBESIDAD CAUSADA POR EL POLIMORFISMO PC-1 Lys/Gln21	78
4.6 FRECUENCIAS DEL GEN PC-1 121 EN POBLACIONES DEL MUNDO	78
4.7 DETECCIÓN DE ALELO HLA	80
4.7.1 FRECUENCIAS ALÉLICAS HLA CARACTERÍSTICAS HALLADAS EN LA POBLACIÓN AMERINDIA ESTUDIADA. COMPARACIÓN CON OTRAS POBLACIONES	80
4.7.2 ANÁLISIS DEL HAPLOTIPO EXTENDIDO HLA-A, -B, -DRB1 Y -DQB1 EN AMERINDIOS.INMIGRANTES: COMPARACIÓN CON OTRAS POBLACIONES	81
5- DISCUSIÓN	87
5.1 ESTANDARIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE OBESIDAD EN AMERINDIOS	89
5.1.1 ESTADO ANTERIOR A NUESTROS ESTUDIOS	89
5.1.2 ESTADO CON NUESTROS ESTUDIOS	89
5.1.3 AMERINDIOS EN MADRID: HLA	90
5.1.4 UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE LA OBESIDAD MEDIANTE LA MEDIDA DEL PERÍMETRO DE CINTURA	91
5.2 GENES DE OBESIDAD Y SÍNDROME METABÓLICO	91
5.2.1 LA POSIBLE HISTORIA DE LOS GENES AHORRADORES	91
5.2.2 PASO DE POBLACIONES RURALES A URBANAS (ALIMENTACIÓN MÁS SEDENTARISMO)	91
5.2.3 HERENCIA POLIGÉNICA DE OBESIDAD	93
5.2.4 GENÉTICA DE OBESIDAD	93
5.2.4.1 Gen de ADIPONECTINA	93
5.2.4.2 Gen PPAR	94
5.2.4.3 OTROS GENES PREDISPONENTES	95
5.3. NIVELES BAJOS DE COLESTEROL SE ENCUENTRAN ASOCIADOS CON EL ALELO Lys121, NO PREDISPONENTE DE SÍNDROME METABÓLICO	97
5.4 EL ALELO PC-1 GLN121, DE RIESGO DE SÍNDROME METABÓLICO EN DIFERENTES POBLACIONES DEL MUNDO	97
6- CONCLUSIONES	101
7- ANEXO	105
8- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111
9- PUBLICACIONES	123
10-CURRICULUM VITAE	149

SUMMARY

INTRODUCTION

OBESITY: A clinical situation with body weight more than acceptable. It affects all social classes and ages. In adults, **it** adds ABDOMINAL OBESITY by excessive subcutaneous and intraperitoneal fat that increases with age and associates more risk of develop cardiovascular diseases (CVDs). It has been defined by correspondence tables between height (cm.) and body weight (kg.), varying the standards with age, gender, ethnicity and genetic or cultural background. Now, **it** is defined by a technique as accurate as the Body Mass Index: the measure of **WAIST CIRCUMFERENCE** (cm.).

For World Health Organization, it is multiethnic, pandemic ("globesity") and a priority problem because mortality, morbidity and increased health care costs because migration and globalization. The 10 leading causes of death are: 1st ischemic heart disease; 2nd stroke and 8th diabetes. Pathologies related to obesity (circulatory disease, acute stroke, CVDs and diabetes) are **slightly** higher in women. CVDs will keep figures **until 2030**, the highest in average and low per capita income countries.

Obesity is a clinical condition of poorly defined etiology, with interrelated genetic, metabolic, behavioral and environmental **factors**. It arises from MORE CALORIC INTAKE, LESS ENERGY EXPENDITURE AND IMBALANCE ENERGY RELEASE/FAT ACCUMULATION. The abnormal regulation of endocrine-metabolic processes accumulate fat in adipose tissue. It is a comorbidity to **other** pathologies: type 2 diabetes (TD2), coronary heart and CVD, heart failure, Metabolic Syndrome, some cancer, osteoarthritis, gallstone, acute pancreatitis, non-alcoholic fatty liver, sleep apnea and depression. Its adverse effects on CVDs and other systems increases mortality by associated pathology and worsen quality of life by chronic disability.

GENES AND ENERGY. Several hypotheses **based on** our evolutionary past promotes susceptibility to it: "thrifty" genes (advantage genes for obesity) in our ancestors, acquired by cyclical episodes of famine/surplus food or other circumstances. People who **has** them now accumulate excessive fat in their bodies and develop obesity if they have higher caloric intake and do sedentary lifestyle,.

"drifty" genes (diversification of the genotype at random). Thrifty genes would persist by genetic drift acquiring multiresistance, and individuals could be prone or resistant to obesity.

Climate change in our primate ancestor's environment forced them to **often** move and change their diet.

Environmental factors of selection on climate induced modern humans to leave Africa and migrate.

Some of them maintained heat genes. **Others** in cold regions (Europe, Siberia) acquired cold genes.

Finally, other lost cold genes and won heat ones again **in Equatorial latitudes**.

THE METABOLIC SYNDROME (MS). It is a **particular** clinic entity. Physiological, biochemical, clinical and metabolic factors altogether increase the risk of CVDs and/or TD2. Its complex pathogenesis have essential factors: central obesity and insulin resistance (IR); also, elevated blood glucose during fasting, atherogenic dyslipidemia, high blood pressure, endothelial dysfunction, genetic susceptibility, hypercoagulability (by prothrombotic factors) and chronic stress.

In 2009, an international expert Panel consensus **defined** MS CRITERIA: Tryglicerides \geq 150mg/dl, low HDL-cholesterol (men $<$ 40mg/dl, women $<$ 50mg/dl), TA \geq 130/85, Glucose \geq 100mg/dl and abdominal obesity by WAIST CIRCUMFERENCE (cm.) in ethnic groups; for Amerindians they recommended to use values of South Asian people, because of absence of direct references.

In 2009, an international expert Panel consensus **defined** MS CRITERIA: Tryglicerides \geq 150mg/dl, low HDL-cholesterol (men $<$ 40mg/dl, women $<$ 50mg/dl), TA \geq 130/85, Glucose \geq 100mg/dl and abdominal obesity by WAIST CIRCUMFERENCE (cm.) in ethnic groups; for Amerindians they recommended to use values of South Asian people, because of absence of direct references.

OBESITY IN AMERINDIANS. Amerindians integrate a diverse ethnic group living in Central/South America countries, mostly in rural environment and other in remote areas. They show anthropometric defined features, inbreeding, scanty contact with other ethnic groups and usually have a little elaborate diet. **Recently they have migrated** to North America and Europe **and adopted** diet, stress and sedentary urban western lifestyle. Therefore, they also develop obesity and more cardiovascular risk factors.

Since 2003, Amerindians have migrated to Madrid region. From May'2007 to August'2010 Arnaiz Villena et al. recruit a population of Amerindian men and women **coming** from Andean and Central America countries. The aim was to define for the first time the optimal waist circumference cut-off points for **obesity diagnosis** in these immigrants and for Amerindians in general. Also, to investigate PC-1 Gln121 variant allele, risk factor of obesity and its possible association in Amerindians. To assert that condition, we analyzed their HLA system and "quasi" specific Amerindian haplotypes.

GENETICS. ASSOCIATED WITH OBESITY / SM GENES, CHROMOSOME LOCATION and CODIFICATION
ENPP1/PC-1 (6q22-q23), on PC-1 GLUCOPROTEIN MEMBRANE, expressed in the majority of cells, **LEP (7q31.3)**, on LEPTIN hormone that regulates the appetite and is released by adipocytes,
UCP1 (4q28-q31), on UNCOUPLING PROTEIN 1, family proteins regulatory of thermogenesis,
ADRB3, ADRB2 (8p12-p11.2),(5p31-q32), on catecholamine-sensitive $\beta 3$ and $\beta 2$ ADRENERGIC RECEIVERS,
TNF (6p21.3), on the TUMOR NECROSIS FACTOR- α (TNF- α),
ADIPOQ (3q27), on ADIPONECTIN adipose tissue protein,
NPY (NEUROPEPTIDE Y), and other genes related to AGOUTI Protein,
RTN (19p13), on RESISTIN hormone secreted by adipose tissue,
ISR1 (2q36), on SUBSTRATE OF THE INSULIN RECEPTOR protein,
GLUCOGENO SYNTHASE, on glycogen syntheses),
PPARG (3p25) on nuclear receptors activated by peroxisomal proliferators (PPARs),
LPL, on LIPOPROTEIN LIPASE, sensitive lipase hormone expressed in adipose tissue **FABP2** on the union of Intestinal Fatty Acids-Binding Protein (IFABP) in epithelial cells of small intestine.

THE GENE PC-1 / ENPP1. It encodes the glycoprotein membrane PC-1 expressed in many cells. It cleaves various substrates. It is an ectonucleotide pyrophosphate/phosphodiesterase (ENPP) in 6q22-q23, exon 4, organized in 25 exons. In the polymorphic allelic variant PC-1 Gln121, in codon 121 a lysine (Lys) is alternative to a glutamine (Gln). This "sick" allele is a risk factor for developing MS or its components in Caucasians (white European, Australian, American, Orientals).

HLA SYSTEM. System of Human Leukocyte Antigen (6p21.3), the **HLA GENETIC REGION** integrated by:
HLA class I REGION: express structurally similar but functionally different proteins. **Classical loci** (HLA-Ia): **HLA-A, -B** and **-C**; very polymorphic, express glycoproteins on nucleated membrane cells, involved in recognize antigenic peptides and initiate cellular immune response. **Loci not classical** (HLA-Ib): **HLA-E, -F** and **-G**, less polymorphic, related to immune tolerance. **Other:** HLA-I (**MIC-A, MIC-B**), **HFE**.

(1) HLA class III REGION: their genes encode proteins functionally different to class I and II.

(2) HLA class II REGION: their genes, very close one to each other, cause link imbalances and "haplotypes" (combinations of alleles at contiguous specific loci), transmitted as unalterable genetic units in generations; they encode **5 polymorphic proteins**: **HLA-DM, -DO, -DP, -DQ** and **-DR**, involved in antigen presentation. α chains, are encoded in named **'A' genes (HLA-DMA, -DPA, -DQA, -DRA)** and β chains in **'B' genes (HLA-DMB, -DPB, -DQB, -DRB)**. The expressed products by genes HLA-DR (α and β chains) determine **the MAIN SEROLOGICAL HLA GROUP**, variable according to the HLA-DRB1 allele in the

SUMMARY

the individual. Some people also bear **other HLA-DRB genes**: (a) functional; express strings that can be of class II β molecules with the strings in α gene HLA-DRA, determining **an ASSOCIATED SEROLOGICAL HLA GROUP**, (b) pseudogenes. In organ and bone marrow transplantation, HLA-B and -DR loci antigens, must submit maximum compatibility, to prevent the "graft-versus-host" rejection; a single amino acid change may induce it. **The EXTENDED HLA MAP** completes the HLA region, adding two more regions: **EXTENDED class I region** (in the telomeric end) and **EXTENDED class II region** (in the centromeric end).

AMERINDIANS and HLA. They bear very few particular alleles (**DRB1*04:11, DRB1*04:17**), and also display "quasi" specific alleles: **A*02-B*35-DRB1*04:07-DQB1*03:02, A*02-B*35-DRB1*08:02 - DQB1 *04:02.**

AIMS. **In a population of Amerindian adult men and women immigrants to Madrid:**

1. To standardize for the first time the values of the waist circumference measurement in order to define obesity in Amerindians. **2.** To ascertain more objectively such condition in the population analyzed, the "quasi"-specific Amerindian HLA genes were studied. **3.** To investigate if PC-1 allele Gln121 also cause susceptibility to obesity in them. **4.** To determine the distribution of allele PC-1 Gln121 frequencies in the sample and world populations. **5** To infer evolutionary conclusions in the framework of the hypothesis of "advantage" genes for obesity ("Thrifty genes").

MATERIAL AND METHODS. POPULATION: 321 unrelated Amerindian adult men and women, immigrants to Madrid region, voluntary blood donors at Centro de Transfusión. SAMPLES: were obtained from a small reservoir of the donation sterile closed system while they were giving blood. All process and components (samples, blood bag, health and specific questionnaires with informed consent) remained anonymity and traceability by using the specific ISBT code of the Centro. They were healthy according to its protocols and computing methodology.

PARAMETERS STANDARDISED. ANTHROPOMETRIC: waist circumference directly measured, blood pressure, weight and height. BIOCHEMICAL: serum cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides. PC-1 POLYMORPHISM SCREENING: Genomic DNA from leukocytes was isolated, DNA exon 4 of PC-1 gene was amplified by PCR and PC-1 DNA copies were subjected to specific electrophoresis. PCR products were confirmed with a molecular weight marker and its sequence was obtained by an automated sequencer (ABI PRISM 3700/ ABI PRISM 3730. Applied Biosystems; California). PC-1 polymorphism was identified by aligning the sequences of both strands (Chromas 2.31 and Mega 3.1 software). It was compared its frequency distribution to world populations (exact Fisher test). HLA GENOTYPING: "Quasi"-specific Amerindian HLA genes were determined. Generic HLA class I (A and B) and high resolution HLA class II (DRB1 and DQB1) was performed by PCR-SSOPLuminex technique that assigns HLA alleles for each sample of DNA.

STATISTICAL ANALYSIS. Using ROC analysis for values of HDL-cholesterol it was standardized the cut-off points of waist circumference. Other statistical used were: χ^2 test, Hardy-Weinberg equilibrium, χ^2 test goodness-of-fit, Student *t* test, ANOVA, logarithmic transformation, Mann-Whitney U and Kruskal Wallis H tests, logistic regression, odds ratio, confidence intervals (CI) and statistical significance. Program used: (SPSS/PC statistical program (version 14.0 for Windows; SPSS).

RESULTS.

WAIST CIRCUMFERENCE IN AMERINDIANS, by direct waist circumference measurement . The optimal values of sensitivity and specificity for HDL-cholesterol levels to define cut-off points of obesity

in Amerindians by ROC analysis were: **women 82.5 cm. and men 88.5 cm.** They differ from South Asian recommended values (women ≥ 80 cm. and men ≥ 90 cm.).

ASSOCIATION Lys/Gln121-biochemical/anthropometric parameters. TOTAL Amerindian obese/non obese: HDL-cholesterol. Average Lys121Lys genotype is significantly lower than Lys121Gln and Gln121Gln. **Remaining parameters** not showed significant differences, compared with PC-1 genotypic groups. **PC-1 genotype frequencies:** Lys121Lys (59.5%), Lys121Gln (33.3%) and Gln121Gln (7.2%).

PC-1 allele frequencies: Lys121 allele (76%) and the "pathologic" **Gln121 allele (24%).**

ALLELIC/GENOTYPIC POLYMORPHISM PC-1 Lys121Gln FREQUENCIES in OBESE vs. NON-OBESE, by Gender: No association obesity to Gln121 allele. Amerindians obese 55.14% (women 58.13%, male 53.12%). **Lys/Gln121 ASSOCIATION IN OBESE and NON-OBESE AMERINDIANS:** No was found significant.

TESTING MODES OF SUSCEPTIBILITY TO OBESITY INHERITANCE caused by PC-1Lys/Gln121 POLIMORPHISM. Logistic regression analyses exclude any effect of other available obesity determinants different than PC-1 genotype like gender, age and biochemical parameters. Obesity defined by waist circumference, showed that PC-1 Gln121 variant was not independently associated to obesity.

PC-1 Gln121 GENE FREQUENCY IN WORLD POPULATIONS. By using Fisher exact test, the results of compare Gln121 allele frequency in populations was: Han Chinese 7.5%, Orientals (Korean 9.4%, Japanese 10.5%), Caucasoid (Germans, Danish, British) 13.3%, Caucasoid North-Africans 37.3% and Negroid Africans 74.6%. In our Amerindian sample was 24%. It can be interpreted as a possible North to South gradient of frequencies of 121Gln allele, risky of obesity, in the Old World.

ALLELIC HLA FREQUENCIES IN THE SAMPLE COMPARED WITH OTHER AMERINDIAN POPULATIONS

The values of expected/observed frequencies for HLA-A, -B and -DRB1, -DQB1 loci did not differ significantly; the sample was in the Hardy-Weinberg equilibrium. The frequency found of HLA alleles was greater than 4% in five HLA, three -B, eight -DRB1 and eight -DQB1 alleles:

5 HLA-A alleles: A*0201, A*2402, A*0101, A*0301, A*1101

3 HLA-B: B*3501, B*5101, B*1402

8 HLA-DRB1: DRB1*1402, DRB1*0407, DRB1*0701, DRB1*0301, DRB1*0802, DRB1*1301, DRB1*0901, DRB1*0101

8 HLA-DQB1: DQB1*0301, DQB1*0302, DQB1*0501, DQB1*0201, DQB1*0402, DQB1*0303, DQB1*0603, DQB1*0202. The majority of these alleles have been already found in Amerindians.

DISCUSSION.

DIAGNOSIS OF OBESITY IN AMERINDIANS. WAIST CIRCUMFERENCE was directly measured. With ROC analysis we standardized the cut-off points that define obesity in Amerindians: **women ≥ 82.5 cm., men ≥ 88.5 cm.,** different to South Asian theoretically assimilated. They were obtained in healthy adult Amerindian men and women and confirmed its nature with HLA genetic study. By both reasons, we consider it simple and useful methodology to discriminate obesity in Amerindians, even in areas of difficult access where conditions are not always suitable for preventive medicine.

A POSSIBLE HISTORY OF THIRTY GENES. Obesity is related to genes and environmental factors. Our ancestors bore an adequate genome to their environment; firstly, they were hunter/gatherers and obtained food with physical effort; later, they added cereals with agriculture. Their genes allowed them to accumulate energy in the body and used it when necessary (famine, etc.). People who now bear them favor obesity if they eat excessive or hyper caloric diet and do sedentary lifestyle. Rural

SUMMARY

populations with environment and diet similar to our ancestors, if migrate to urban areas or adopt those habits, develop obesity, MS and associated pathologies either.

POLYGENIC INHERITANCE OF OBESITY. Circumstances not genetic (type of diet, accumulation of fat, sedentarism, etc.) contribute to develop obesity. Obesity is monogenic (caused by a single gene) in less than 5% individuals. Mostly have a genetic predisposition of polygenic type, with environmental factors and behaviors that favor to predisposing alleles in many genes. Variant PC-1 Gln121 allele induces MS or related diseases. Ethnic groups can have different genes or alleles of susceptibility.

OBESITY GENETICS. In addition to PC-1 gene, our main focus, we have also studied adiponectin and PPAR γ genes IN THE SAME AMERINDIAN population defined by HLA genes, for the first time.

ADIPONECTIN GENE (ADIPOQ or APM1) (3q27). SNP45 and SNP276 polymorphisms are related to MS and other pathologies including obesity, with results depending on populations. **In our Amerindians:** SNP276 T allele, associates to low diastolic pressure; SNP45 G allele, correlates to OBESITY IN WOMEN; haplotype SNP45/SNP276 T/G in total individuals, tends to show a LINK with NON-OBESE; haplotype SNP45/SNP276 T/T is linked to OBESE MEN.

SNP45 T and SNP276 T frequency allele is greater in Black Africans than in Europe and Asia. This haplotype linked to obese Amerindian men suggests that the evolution related to famine or less food to be distributed, could mark the frequency of adiponectin polymorphism in world populations.

PPAR γ GENE (PPARG) (3p25). Amerindians were genotyped for PPAR- γ Ala12 and PPAR- γ 12 variants, one of the predisposing genes to MS and DT2. THERE WAS NO ASSOCIATION PPAR- γ 2 Ala12 AND OBESITY, defined with values standardized of waist circumference.

In populations PPAR- γ Pro12 was the wild-type allele, which would happen before that modern human leave Africa. PPAR- γ Ala12 perhaps appeared in Caucasoid later. Their frequencies are low/zero in Negroid and significant in populations, particularly European Caucasoid. Its appearance perhaps occurred after adapting to the diet based on agriculture.

CONCLUSIONS: ADULT AMERINDIAN POPULATION SAMPLE

Abdominal obesity was defined with waist values of ≥ 88.5 cm. for men and ≥ 88.2 cm for women.

1. The percentage of obesity was: men, 53.12% and women, 58.13%.
2. PC-1 Gln121 allele frequency was 24%, an intermediate value between all populations studied; it was similar to Caucasian (average 13%), in between Sicilian (17.8%) and Caucasian North African (37.3 %) and significantly different from Han Chinese (7.5%) and Negroid Africans (74.6%).
3. PC-1 Gln121 allele, found risk factor for obesity in analysis of large series in Eastern and Caucasian people, HAS NOT A RISK FACTOR IN AMERINDIANS.
4. PC-1 allele Lys-121, (not predisposing to obesity), was associated with low levels of HDL-cholesterol suggesting that, high levels of HDL-cholesterol could protect from obesity and metabolic syndrome to Amerindian carriers of allele PC-1 Gln-121.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. OBESIDAD

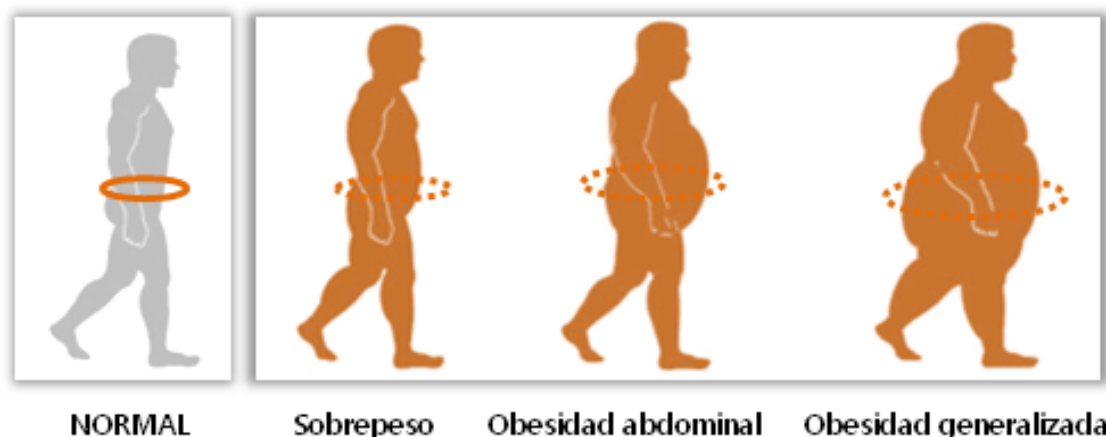
1.1 DEFINICIÓN de OBESIDAD

La **OBESIDAD** se ha venido definiendo mucho tiempo (así se empezó en el siglo XX) mediante una tabla de correspondencia entre talla (en cm.) y peso corporal (en Kg.). Es una situación con peso corporal superior al aceptable o deseable, por acumulación excesiva de grasa en el cuerpo. Los estándares pueden variar con la edad, sexo y sustrato genético o cultural. La obesidad, va acompañada en la mayoría de los casos adultos de obesidad abdominal (Fig. 1).

OBESIDAD ABDOMINAL es la condición de tener exceso de grasa en el abdomen subcutánea e intraperitoneal, de órganos internos (visceral). Se ha comprobado que eleva el riesgo de desarrollar desórdenes y patologías graves como diabetes, hipertensión arterial y Síndrome Metabólico [Pi-Sunyer X, 2009].

Hoy día, por su simplicidad diagnóstica, se utiliza la **MEDIDA DE LA CIRCUNFERENCIA o PERÍMETRO DE LA CINTURA** (en cm.) establecida para individuos blancos (caucasoides) europeos en ≥ 88 cm. en mujeres e ≥ 102 cm. en hombres. [Expert Panel. ATP III, 2001]. Varía en distintos grupos étnicos —caucasoides, mongoloides (chinos), amerindios y negroides— y con la edad, sexo y sustrato genético o cultural si bien los valores de etnias de Centro y Suramérica (amerindios) no estaban definidos y se recomendaba asimilarlos a los de surasiáticos [Alberti et al., 2005; Alberti et al., 2009]. Es una técnica más práctica e igual de precisa que el Índice de Masa Corporal, si bien algunos lo complementan. Este valor ha sustituido y es tan preciso o más para definir obesidad patológica que el Índice de Masa Corporal [Alberti et al., 2009].

Fig. 1. Evolución de la Obesidad y la Circunferencia o Perímetro de Cintura (De: Unger, 2003, adaptada)



La obesidad es una condición clínica crónica, recidivante, de etiología mal definida. En su aparición y desarrollo confluyen y se interrelacionan factores: genéticos, metabólicos, conductuales y ambientales. La grasa intraabdominal aumenta con la edad, y se asocia a mayor riesgo de desarrollar patologías cardiovasculares: hipertensión arterial (entre otras), tolerancia alterada de la glucosa,

hipertrigliceridemia y colesterol ligado a proteínas de alta densidad (colesterol-HDL) bajo [World Health Organization, 2008; James, 2008].

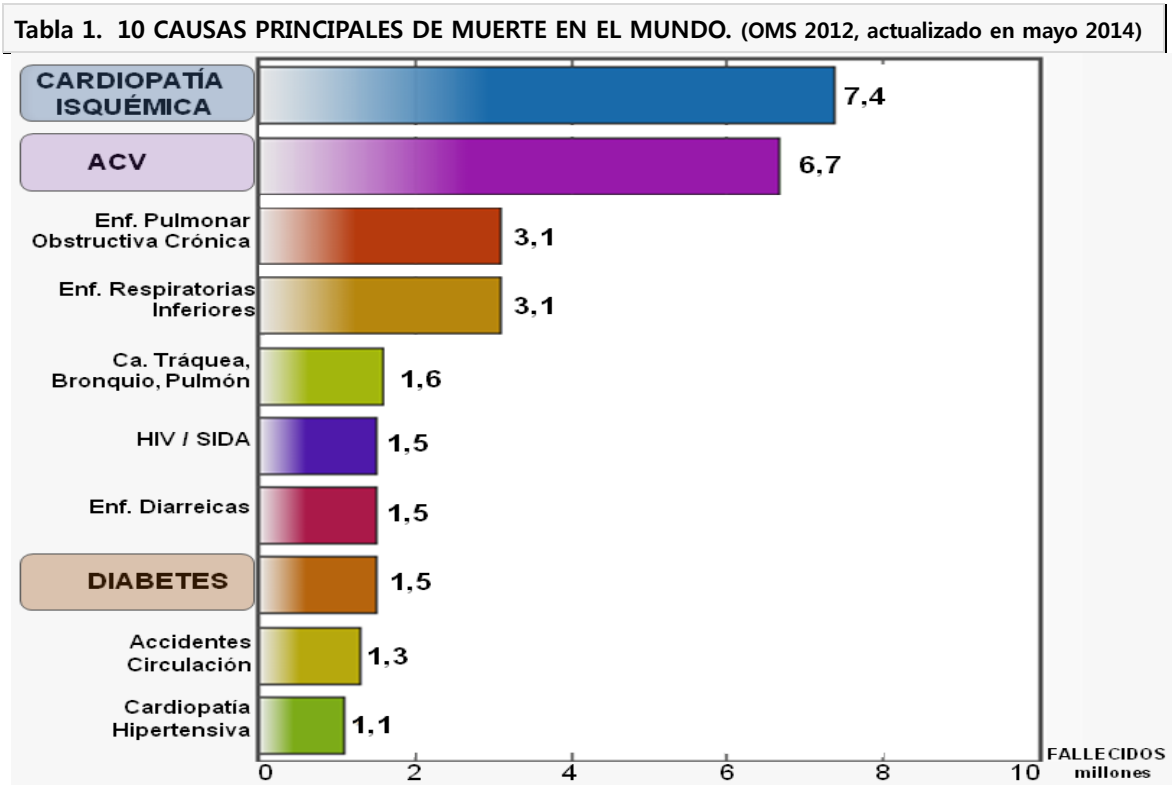
Su distribución es mundial, multiétnica y pandémica (“**globesity**”) [World Health Organization, 2008; James, 2008]. Afecta a todas las edades (hay más niños y adolescentes obesos, con tendencia en alza) y estratos sociales. De elevada prevalencia -no exclusiva- en países industrializados, aumenta la morbilidad y mortalidad por patologías asociadas en todos los países, incrementando su coste sanitario. Para la Organización Mundial de la Salud (OMS), es un problema prioritario de salud de la sociedad moderna y una de las patologías no transmisibles [World Health Organization, 2008; James, 2008].

Investigadores ingleses, valorando peso, talla y perímetro de cintura en mujeres y hombres de 25 a 74 años reclutados al azar en el norte de Glasgow, concluyeron que el perímetro de cintura es una herramienta sencilla y útil para identificar individuos con su salud en riesgo por sobrepeso y distribución central de la grasa [Lean et al., 1995].

Se comentarán más adelante los estudios que han establecido el umbral de perímetro de cintura definitorio de obesidad [Alberti et al., 2005; Alberti et al., 2009].

1.2 OBESIDAD Y PATOLOGÍAS DERIVADAS

Las 10 CAUSAS PRINCIPALES de MUERTE en el MUNDO según la Organización Mundial de la Salud (OMS)/World Health Organization (WHO) en 2012, con datos actualizados en Mayo de 2014 [WHO. The Top Ten Causes of Death, 2014a] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/> se reflejan en la Tabla 1.



Las **enfermedades no transmisibles**, muestran una alta prevalencia (frecuencia de todos los casos, antiguos y nuevos, en un momento dado del tiempo). De ellas, las enfermedades

cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. La **cardiopatía isquémica y accidentes cerebrovasculares**, han permanecido las dos causas mayores de muerte durante la pasada década, con 7,4 y 6,7 millones de muertes, respectivamente. La **diabetes** se ha incrementado de forma importante. Causó 1,5 millones de muertes en 2012, más de 1 millón (2%) de muertes que en el año 2.000, apareciendo por primera vez como la octava causa de muerte entre las 10 principales en la actualización de datos de la OMS en 2014 (Tabla 1) [WHO. *No communicable diseases: Risk factors* <http://apps.who.int/gho/data/node.main.A867?lang=en> [WHO 2014b].

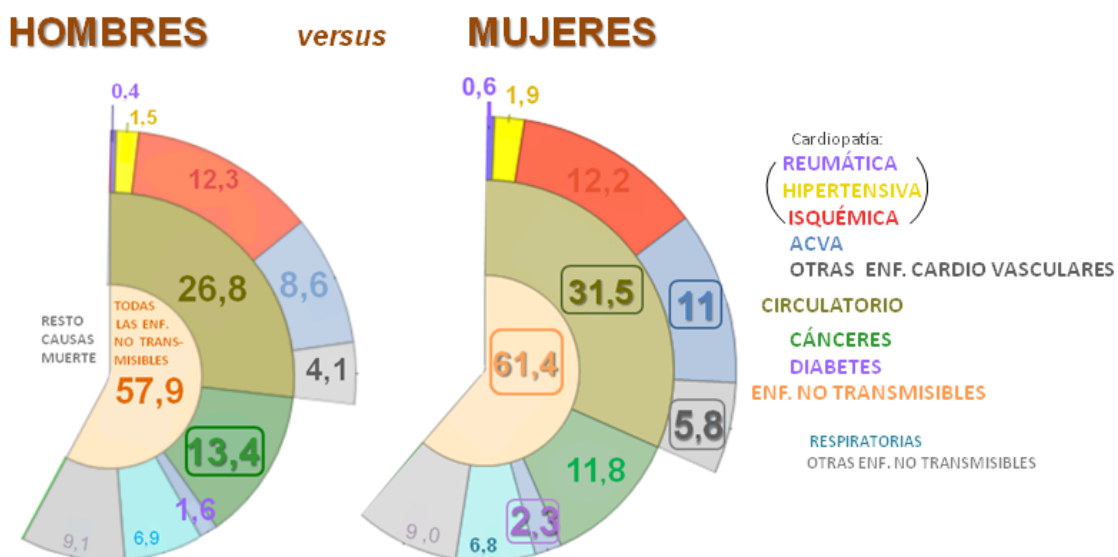
Se denomina "*factor de riesgo*" a cualquier rasgo, característica (por ejemplo, genética) o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión. Son "**factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares**": la ingesta de alcohol, la presión arterial elevada, el nivel de glucosa y colesterol elevado en plasma, la inactividad física, el sobrepeso u obesidad y el tabaquismo. La OBESIDAD y sus COMORBILIDADES ASOCIADAS, han incrementado enormemente la frecuencia —PREVALENCIA— y número de casos —INCIDENCIA— de estas enfermedades en todo el mundo [WHO. *No communicable diseases: Risk factors*. <http://apps.who.int/gho/data/node.main.A867?lang=en> (2014b)].

La MORTALIDAD PROPORCIONAL o porcentaje de causas de muerte comparativamente en hombres frente a mujeres fue la siguiente según la OMS [WHO. *Global Infobase Mortality*. 2004a: <https://apps.who.int/infobase/Mortality.aspx>] (Fig. 2). Según estos datos,

En las MUJERES, aumenta el porcentaje de causas de muerte (comparado con el correspondiente en hombres) en: enfermedad circulatoria (**31,5%** vs 26,8% en hombres), accidente cerebrovascular agudo (**11%** vs 8,6% en hombres), otras enfermedades cardiovasculares (**5,8%** vs 4,1% en hombres), enfermedades no transmisibles (**61,4%** vs 57,9% en hombres) y diabetes (**2,3%** vs 1,6% en hombres). En el resto de causas de muerte, las cifras son similares en mujeres y hombres.

En los HOMBRES, la proporción es inversa en cánceres (**13,4%** vs 11,8% en mujeres).

Fig. 2. MORTALIDAD PROPORCIONAL POR ENFERMEDADES RELACIONADAS CON OBESIDAD frente a otras causas de muerte (% en Hombres vs. Mujeres). OMS. Todos los estados miembros, 2004

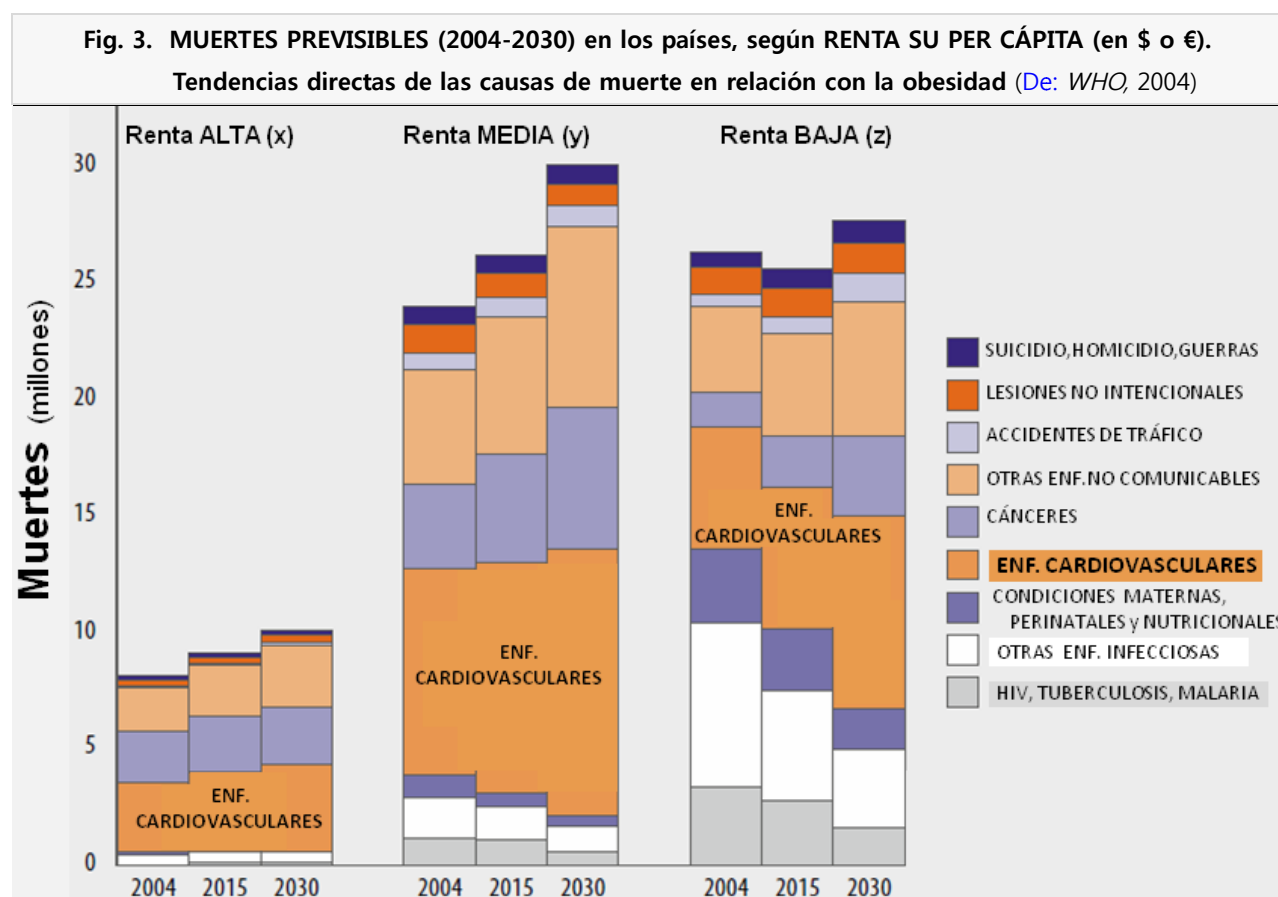


Se ha calculado las **CAUSAS DE MUERTE** en los **PAÍSES según su RIQUEZA** (renta per cápita en dólares o euros) WHO, *The top 10 causes of death across income groups* www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index3.html (WHO 2012) Para el periodo 2004-2030, las cifras estimadas en millones de individuos fallecidos y las tendencias de las causas, difieren http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf: (Fig. 3):

Según este cálculo a largo plazo, los países de **renta ALTA**, mantendrán cifras similares (alrededor de 10 millones) y las causas, permanecerán bastante estables.

Los de **renta MEDIA**, alcanzarán 30 millones de fallecidos en total, aumentarán exponencialmente otras enfermedades no transmisibles pero más estables, con cifras elevadas por enfermedades cardiovasculares.

Los de **renta BAJA** superarán los 25 millones de muertes en total. Las enfermedades no transmisibles, se mantendrán estables, las enfermedades cardiovasculares elevadas, con tendencia a disminuir, mientras que otras enfermedades infecciosas tendrán un alto porcentaje



La CARGA de las ENFERMEDADES NO TRANSMISIBLES (incluyendo el Síndrome Metabólico), representa casi la mitad de la carga global de enfermedades para todas las edades WHO. Global Burden Disease [\[http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf\]](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf) (WHO 2004).

En adultos, LA **CARGA DE ENFERMEDAD para los PAÍSES**, varía también **según su RIQUEZA** (renta per cápita en dólares o euros):

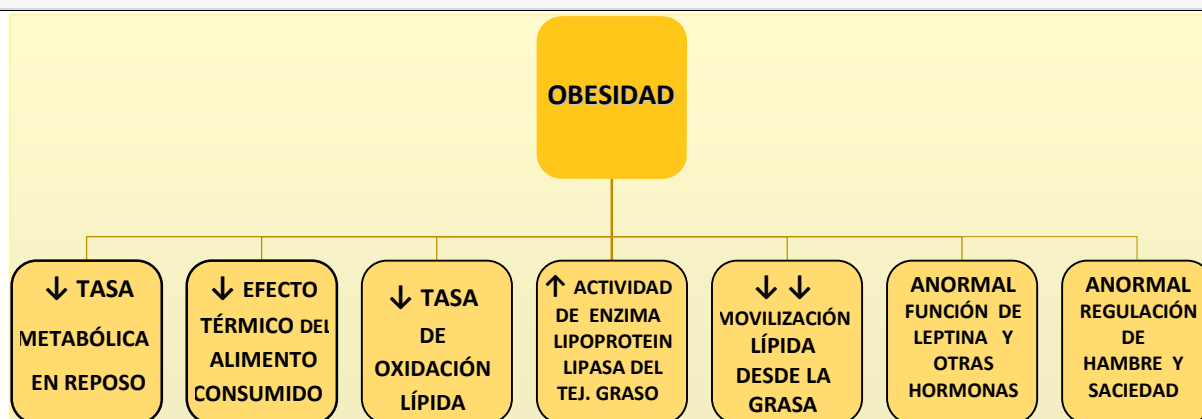
En países de **renta BAJA y MEDIA**, casi el 45% es atribuible ahora a enfermedades no transmisibles, acelerado por el envejecimiento de la población y cambios en la distribución de los factores de riesgo. De las enfermedades cardiovasculares (cardiopatía isquémica y accidentes vasculares cerebrales), su carga estandarizada de edades es más alta que en países de renta alta.

En los de **renta ALTA**, las enfermedades no transmisibles, dominan la carga de enfermedad, consideradas antes una prioridad en salud pública. En parte, esto refleja la estructura envejecida de su población, pues los riesgos de estas enfermedades se incrementan generalmente con la edad.

1.3 PATOGENIA de la OBESIDAD

La obesidad surge por alteración de la coordinación de 3 mecanismos básicos: INGESTA CALÓRICA, GASTO ENERGÉTICO y EQUILIBRIO ENTRE LIBERACIÓN DE ENERGÍA/DEPÓSITO DE GRASA. Mecanismos aún mal conocidos, alteran la regulación normal de los procesos endocrino-metabólicos intervinientes en los dos primeros, resultando depósito excesivo de grasa (Fig. 4).

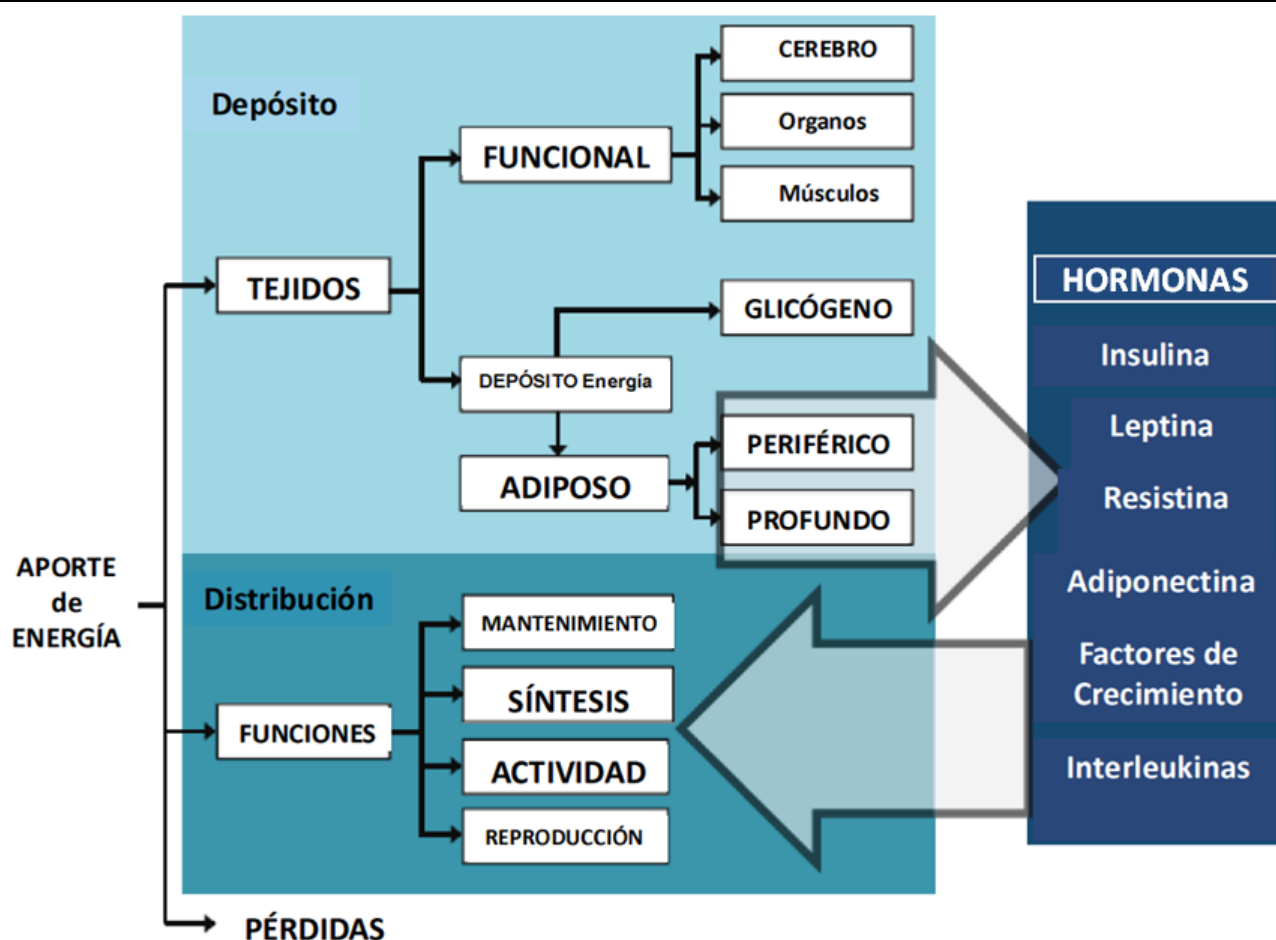
Fig. 4. Cambios fisiológicos asociados con la obesidad (De: Bašić et al., 2012)



El **tejido adiposo** se asocia con diferentes funciones biológicas. Proporciona energía para cada una, por su **implicación** en múltiples vías de señalización mediante las que interactúan la energía necesitada y la disponible, y su **interacción** con sistemas de retroalimentación que la asignan de forma proactiva entre esas funciones [Wells, 2012]. Varias hormonas intervienen integrando el tejido adiposo con estas funciones competitivas: leptina (segregada por el propio tejido adiposo), insulina (responsable de la dinámica de la adiposidad y el desarrollo metabólico) y cortisol (sensible a una variedad de estresantes ecológicos) [Harshman & Zera, 2007; Tatar et al., 2003]. Son importantes también otras moléculas señalizadoras.

Para otros, el metabolismo energético, puede considerarse un "juego de asignaciones o distribuciones". El individuo recibe el aporte de energía con su ingesta calórica. Esta energía es dirigida hacia terminales competitivos, de almacenamiento (depósito en los tejidos). Dependiendo del lugar de depósito, esta energía se transformará en actividad funcional (cerebro, órganos diversos, músculos) se transformará en glicógeno o se almacenará en el tejido adiposo periférico y/o profundo cuando resulta excesivo. Al mismo tiempo, según la demanda de energía requerida por el organismo en cada momento, ésta se distribuirá realizando funciones de mantenimiento, síntesis tisular, generará actividad y será vital en la reproducción. Las "decisiones" de la ubicación de la energía son asumidas por la indicación de varias hormonas señalizadoras (Fig. 5) [Wells, 2012]

Fig. 5. Esquema del Metabolismo energético en los tejidos (asignación / distribución) (De: Wells, 2012)



Varias moléculas segregadas por el tejido adiposo influyen en asignar la energía entre esos destinos. La hormona adiponectina (sensibilizadora de la insulina), modera muchos aspectos de la reproducción mediante receptores en ovarios, oviducto, endometrio y testículos, y en el sistema nervioso central [Campos *et al.*, 2008; Michalakakis & Segars, 2010].

1.4 LA IMPORTANCIA ACTUAL DE LA OBESIDAD EN PATOLOGÍAS

La OBESIDAD, se ha relacionado como COMORBILIDAD asociada a otras patologías. Una, de naturaleza metabólica como la diabetes tipo 2 se considera un factor de riesgo independiente de la enfermedad cardiovascular. Estudios prospectivos y observacionales, confirman los importantes efectos adversos de la obesidad en la enfermedad cardiovascular [Pi-Sunyer X, 2009] (Fig. 6).

	DIABETES TIPO 2 (DT2) (NO INSULINO DEPENDIENTE)
	ENFERMEDAD CORONARIA Y CARDIOVASCULAR, INSUFICIENCIA CARDÍACA
OBESIDAD	SÍNDROME METABÓLICO (DISLIPEMIA, HIPERTENSIÓN, DT2)
MORBILIDADES	CÁNCER (ALGUNOS TIPOS)
ASOCIADAS:	OSTEOARTROSIS, ARTRITIS E INCAPACIDAD
	ENFERMEDAD BILIAR (COLELITIASIS)
	PANCREATITIS AGUDA
	HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO
	COMPLICACIONES PULMONARES (APNEA DEL SUEÑO)
	ALTERACIONES PSICOLÓGICAS (DEPRESIÓN)

Fig. 6. OBESIDAD. Importancia en la patogenia de varias patologías (De: Pi-Sunyer X, 2009, adaptada)



La obesidad desencadena una cascada de acontecimientos en diferentes sistemas del organismo cuyas últimas consecuencias son, en quienes la padecen, un incremento de la mortalidad por sus graves patologías asociadas: (síndrome metabólico, enfermedad cardiovascular y DT2) y asociación con diferentes tipos de tumores, incapacidad global por trastornos articulares y respiratorios), y empeoramiento global de la calidad de vida y afectación psicológica con depresión y baja autoestima.

Son **MORBILIDADES ASOCIADAS A LA OBESIDAD** las siguientes patologías:

- **DIABETES TIPO 2 (NO INSULINO DEPENDIENTE).** El sobrepeso, a largo plazo, aumenta significativamente el riesgo de desarrollar DT2 [Golditz *et al.*, 1995]. la pérdida de peso lo reduce (comprobado en un programa preventivo de diabetes) [Fujimoto *et al.*, 2007] y en su control; también, reduciendo los factores de riesgo cardiovascular y con el empleo de medicación [Look AHEAD Research Group. Pi-Sunyer *et al.*, 2007].
- **ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.** La obesidad probablemente es un factor de riesgo independiente y posiblemente causal de la enfermedad cardiovascular: enfermedad coronaria, infarto agudo de miocardio, angor pectoris, insuficiencia cardiaca congestiva, accidente vascular cerebral, hipertensión arterial y fibrilación auricular [Must *et al.*, 1999; Klein *et al.*, 2004].

La OBESIDAD asociando complicaciones vasculares, incrementa el riesgo de desarrollar:

- ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR: [Burke *et al.*, 2008], estudio Framingham [Wilson *et al.*, 2002] o el IDEA "International Day for the Evaluation of Abdominal Obesity".
 - FIBRILACIÓN AURICULAR, en datos del estudio Framingham [Wang *et al.*, 2004]
 - edad precoz de aparición del PRIMER INFARTO [Madala *et al.*, 2008]
 - La HIPERTENSIÓN ARTERIAL (Factor de riesgo de la Enfermedad Cardiovascular), se relaciona a la obesidad [Conen *et al.*, 2007; Drøystvold *et al.*, 2005].
- **SÍNDROME METABÓLICO (SM).** El SM es una combinación de varios factores de riesgo cardiovascular. Son factores cardiometabólicos la obesidad abdominal, triglicéridos elevados, colesterol lipoproteína de alta densidad (colesterol-HDL) reducido, hipertensión arterial e hiperglucemia en ayunas. Se asocia con riesgo elevado de mortalidad cardiovascular [Gao 2008].

Muchos estudios han detectado fuerte asociación de:

- OBESIDAD ABDOMINAL—RIESGO DE DIABETES [Chen *et al.*, 2008; Wassink *et al.*, 2008]
- OBESIDAD ABDOMINAL—RIESGO DE DIABETES TIPO 2 [Wassink *et al.*, 2008; Gao, 2008]
- OBESIDAD-INACTIVIDAD FÍSICA Y DIETA RICA EN CARBOHIDRATOS-TABAQUISMO—MÁS RIESGO DE SM [Wannamethee *et al.*, 2006]
- REDUCIR PESO Y/O CAMBIAR ESTILO DE VIDA—disminuye su prevalencia [Ilanne-Parikka *et al.*, 2008; Phelan *et al.*, 2007].

CÁNCER. El seguimiento de pacientes durante años para evaluar la aparición de ALGÚN TIPO DE CÁNCER y la presencia de OBESIDAD, ha objetivado esta asociación. Un estudio de cohorte prospectivo durante 16 años (más de 900.000 individuos, sin cáncer en 1982), asoció significativamente OBESIDAD Y CÁNCER [*American Cancer Prevention Study II, EEUU. Calle et al., 2003*].

En estos individuos obesos, la mortalidad fue más alta, por:

- TODAS LAS CAUSAS DE CÁNCER, en 52% en hombres y 62% en mujeres.
- VARIOS TIPOS DE CÁNCER: esófago, colon, recto, vesícula, páncreas, riñón, linfoma no Hodgkin y mieloma.

- **OSTEOARTRITIS E INCAPACIDAD.** La artritis y artrosis impactan en la movilidad y pérdida de productividad del individuo pudiendo incapacitarle precozmente. Éste, debe reconocer la repercusión de la obesidad en su estilo de vida y funcionalidad, perder peso y hacer rehabilitación. La asociación OBESIDAD—OSTEOARTRITIS DE RODILLA es fuerte, y moderada la asociación OBESIDAD—OSTEOARTRITIS DE CADERA.
- **LITIASIS BILIAR.** Es causa frecuente de hospitalización, más en mujeres, y grava considerablemente los costes en salud [*Liu et al., 2008*]. El National Health Service en Inglaterra y Escocia en un estudio epidemiológico de 1.3 millones de mujeres con edad media 56 años), halló que las obesas al inicio del estudio era más probable su hospitalización por enfermedad biliar e ingreso más prolongado.
- **PANCREATITIS AGUDA.** Hay estrecha relación entre PANCREATITIS AGUDA—OBESIDAD. Incrementa la severidad de la pancreatitis aguda y la mortalidad por su causa [*Al Mofleh 2008; De Waele et al., 2006; Martínez J et al., 2006; Papachristou et al., 2006*]. Es factor de riesgo primario de complicaciones locales, fracaso pancreático y muerte por pancreatitis aguda. En un metaanálisis (5 estudios, 739 pacientes), la obesidad era factor de riesgo para desarrollar complicaciones locales y sistémicas en pancreatitis aguda, con mortalidad incrementada [*Martínez J et al., 2006*]. Entre los obesos, hubo más complicaciones locales y sistémicas y más mortalidad.
- **HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO.** Es un espectro de desórdenes desde esteatosis a esteatohepatitis no alcohólica, a cirrosis y carcinoma hepatocelular [*Preiss D & Sattar N, 2008*]. Se asocia a: obesidad, dislipidemia, hipertensión arterial y resistencia a la insulina, componentes del SM que incrementa el riesgo cardiovascular [*Preiss & Sattar 2008*]. Afecta al 15-30% de la población general y 70% individuos con DT2 [*Targher & Arcaro 2007*]. La obesidad, lo predice.
- **COMPLICACIONES PULMONARES.** La obesidad es Factor de Riesgo fundamental para desarrollar APNEA OBSTRUCTIVA DEL SUEÑO. Son sus complicaciones: hipertensión pulmonar, fracaso cardíaco derecho, hipertensión resistente a drogas, accidentes cerebrovasculares y arritmias. Hay obstrucción de vías aéreas superiores (repetitivos durante el sueño), ronquidos, sueño fragmentado, hipoxemia/hipercapnia repetitivas, somnolencia diurna y complicaciones

cardiovasculares. Su prevalencia en adultos es: mujeres 2-3%, hombres 4-5%; obesos >30% y obesos mórbidos 50-98% [Grunstein *et al.*, 2007].

- **DEPRESIÓN.** Coexisten OBESIDAD—DESORDEN DEPRESIVO MAYOR, desconociéndose la asociación causal. Muchos antidepresivos, al aumentar el apetito, se asocian con ganancia de peso. Con depresión o ansiedad eran significativamente más probables comportamientos poco saludables (tabaquismo, obesidad, inactividad física y alcoholismo en diverso grado) [Strine *et al.*, 2008].

1.5 GENES “AHORRADORES” DE ENERGÍA (“*THRIFTY GENES*”). DIFERENTES HIPÓTESIS

Se sabe que la obesidad resulta de la interacción “genes—medio ambiente” y que la susceptibilidad a padecerla radica en nuestro pasado evolutivo, pero aun se debate el modo cómo ha contribuido.

El genetista estadounidense JV Neel estudió poblaciones en contacto reciente con la civilización occidental y detectó diabetes frecuente, que sugeriría predisposición genética. Sostiene en su hipótesis del “genotipo ahorrador” (“*thrifty gene*”) que la obesidad actual en países industrializados es un recuerdo de nuestros antepasados que sufrieron selección positiva de genes que favorecen el almacenamiento de energía, consecuencia de *episodios cíclicos de hambruna/excedente alimenticio*, en la transición de sociedades cazadoras/recolectoras a la agricultura hace 10.000 años. Debió ser **una ventaja adaptativa**. En la actualidad, quienes han heredado esos genes, depositan grasa en su organismo preparándose para una hambruna que nunca llega que, unido al incremento del sedentarismo en países del primer mundo y la alimentación del tipo “supermercado”, ya en zonas del segundo y tercer mundo, resultan en la obesidad pandémica [Neel, 1962; Neel 1999].

Andrew Prentice, nutricionista británico, apoya la hipótesis del gen ahorrador (“*thrifty gene*”). La hambruna puede haber sido sólo una fuerza que empuja la evolución de los genes ahorradores durante los pasados 15.000 años o más (desde la invención de la agricultura) pero, al actuar en la supervivencia y la fertilidad, la **presión de selección** puede haber bastado, aun en un corto periodo de tiempo, para generar una presión para el mantenimiento de los genes “ahorradores” [Prentice *et al.*, 2008].

El biólogo británico John Speakman, la refuta. Que los genes ahorradores prevalezcan opina, es atribuible a la **deriva genética resultante de eliminar la presión de selección depredadora sobre humanos**, por adquisición de multiresistencia compleja: hipótesis de la diversificación del genotipo al azar (“*drifty gene*”) sobre hermanos por adquisición de culturas complejas [Speakman 2007; 2008]. De los genes que nos predisponen a la obesidad, la mayoría de sus mutaciones son inactivas y han variado durante la evolución, haciendo a unos individuos propensos a la obesidad y a otros resistentes [Speakman, 2013].

H. Pijl, de la Universidad de Leiden, analiza los antecedentes evolutivos de obesidad epidémica actual. Hace 2 millones de años, en el hábitat de nuestros ancestros primates cambió el clima, obligándolos a los desplazamientos demográficos y la especiación humana; se modificó su dieta de carbohidratos principalmente a otra basada en pescado y carne que proporcionó energía y estructura suficiente para facilitar el crecimiento del cerebro y la encefalización. La resistencia a la insulina puede haber evolucionado para impedir el peligro de hipoglucemia al cerebro, al ingerir menos carbohidratos. Desarrollar capacidades cognitivas, permitió controlar el fuego, elaborar herramientas (aumentando la energía obtenida del alimento) y facilitó defenderse contra depredadores aliviando la presión selectiva de mantener el peso corporal para ser más fuertes. Mutaciones al azar (incrementando el peso) se distribuyeron por fluctuación genética en el pool genético humano. En sociedades cazadoras/recolectoras la inseguridad estacional de alimento estimuló la evolución de genes ahorradores, para maximizar la ingesta de nutrientes y el almacenamiento de energía al disponer de alimento. La agricultura y la revolución industrial, cambiaron nuestro hábitat rápidamente y el sedentarismo aumentó. Disponer ilimitadamente de alimentos, muchos refinados y sustituir el esfuerzo físico por la mecanización, elevó el balance energético, particularmente en quienes aún están adaptados a condiciones ambientales anteriores (portadores de genes ahorradores, carentes de protección genética contra la ganancia de peso) [Pijl, 2011].

Investigadores ingleses proponen una **nueva teoría del origen evolutivo de la obesidad**. La susceptibilidad diferente a la obesidad entre etnias, puede ser rastreada de la distinta exposición de sus respectivos ancestros a **“factores ambientales de selección relativos al clima”** iniciados cuando los modernos humanos abandonaron África hace 70.000 años y migraron a través del mundo, alcanzando América hace unos 20.000 años [Sellayah et al., 2014]. Distinguen distintas exposiciones climáticas:

- Los descendientes de quienes permanecieron en África y migraron a ambientes tropicales o subtropicales (negros americanos y habitantes de islas del Pacífico) **mantuvieron genes de adaptación al calor: la proteína desacoplante 1** (Uncoupling Protein 1-UCP1).
- Quienes emigraron a regiones más frías (Europa y Siberia), adquirieron genes de adaptación al frío: genes de la termogénesis incrementada. Esta **selección positiva para la adaptación al frío** dotó a caucasianos y asiáticos orientales (chinos, japoneses y coreanos) de una función eficiente del tejido adiposo marrón (brown adipose tissue-BAT) y de la proteína desacoplante 1 (Uncoupling Protein 1-UCP1) fundamental en el metabolismo, lo que origina una tasa metabólica más alta y resistencia a la obesidad, según estos investigadores.
- Se hipotetiza también según ellos que, individuos siberianos primitivos que migraron al continente americano, asentándose en regiones subtropicales en América del Norte y Central, **perdieron sus genes de adaptación al frío y readquirieron genes de adaptación al calor**.
- También se ha postulado que para africanos y surasiáticos, cuyos ancestros no precisaron evolucionar eficientemente la función del tejido adiposo marrón y la proteína desacoplante 1,

resultó en una **propensión elevada a la obesidad**, al combinarse con el cambio a sedentarismo y el estilo de vida hipercalórico occidental de alimentación de supermercado.

Quizá la capacidad de termorregulación ante calor o frío extremos proporcionó más ventajas de supervivencia y coeficientes de selección que los genes ahorradores, que permiten sobrevivir para alcanzar la edad reproductiva; pero antes era prioritario asegurar la supervivencia. Un **gen**, esencial para mantener la temperatura corporal en climas fríos, es **la proteína desacoplante 1 (Uncoupling Protein 1-UCP1)**, expresada intensamente en el tejido adiposo marrón y de forma casi exclusiva en la membrana mitocondrial. Muy abundante en neonatos y vital en la termorregulación en la infancia, aumenta hasta la adolescencia y disminuye progresivamente hasta la vejez [Cannon & Nedergaard, 2004]. En respuesta al frío, desencadena una función termogénica efectiva, desintegrando los triglicéridos almacenados en su constituyente glicerol y ácidos grasos libres. Éstos, entran en las células del tejido adiposo marrón y en la membrana interna mitocondrial la activan por la síntesis de ATP desacoplante procedente de fosforilación oxidativa y produce calor por un mecanismo de desgaste energético. Por su capacidad termogénica, resulta un gen muy especializado para el gasto de energía, capacidad secundaria de consumo de grasa y calorías.

Un leve descenso de la temperatura (-19° C) causa en individuos sanos importante activación termogénica. Su capacidad de generar calor, resultó vital para permitir a los humanos poblar regiones frías del mundo.

La migración a latitudes nórdicas debe haber necesitado la selección de genes para la adaptación al frío, tales como los genes de la termogénesis incrementada, debido a sus efectos secundarios en el metabolismo, adiposidad y gasto de energía, resultaron clave en la predisposición genética a la obesidad en la población occidental actual, sedentaria y sobrealimentada, y explica que la carga de obesidad no es compartida igualmente entre las diversas etnias.

1.6 MEDICINA EVOLUTIVA DE LOS GENES “AHORRADORES”

- En la teoría de la evolución [Trevathan *et al*, 2008], para ser denominado darwiniano, un CARÁCTER ó RASGO, debe cumplir 3 premisas (los tres supuestos básicos de la evolución):

- 1º Deben existir algunas **variaciones fenotípicas** de ese carácter en la población estudiada (diferente respuesta de una bacteria a un antibiótico particular, variable expresión de enfermedad cardiovascular, etc.).
- 2º Alguna proporción en la variación fenotípica del rasgo, debe resultar de una **variación genética subyacente**; la expresión fenotípica puede estar muy afectada por el ambiente, básico en la mayoría de los rasgos humanos. Los individuos pueden tener tendencias que varían para expresar algún rasgo fenotípico (ejemplo: capacidad para digerir lactosa: mal tolerada como leche, mejor como kefir o yogur).
- 3º El rasgo, debe tener un **efecto en la adecuación** (la supervivencia y reproducción de la prole hasta la madurez reproductiva). Esa selección natural opera en los individuos que poseen rasgos,

comportamientos y características que promueven la salud, supervivencia y éxito reproductivo a través del tiempo. En un entorno particular y gradualmente, eliminan o disminuyen esos rasgos o características que comprometen la salud o afectan negativamente el éxito reproductivo.

La salud, nos afecta durante toda nuestra vida. La medicina evolutiva invoca la teoría de la historia de la vida como “marco organizador de principios” para examinar cómo la selección natural opera en diferentes estados del ciclo vital. Sostiene que, para que un organismo crezca, mantenga su vida y se reproduzca, dispone de energía finita, que se distribuye para cada proceso mediante “intercambios” entre aspectos importantes de la vida (duración de la gestación, edad para el destete, duración del crecimiento, tamaño corporal adulto y duración total de la vida). La selección natural modela rasgos, determinando cuáles prosperarán o fracasarán en un entorno dado. La energía gastada en buscar alimento o compañeros no se puede utilizar para otros aspectos como crecer o alcanzar mayor tamaño.

El valor adaptativo de “cualquier rasgo particular” es determinado, al menos parcialmente, por la extensión con que ese rasgo es concordante (o complementario) a un grupo total de rasgos funcionalmente relacionados—una colección adaptativa— de características. La evolucionada fisiología humana concentra una variabilidad de rasgos a un rango de “normas adaptativas” y resulta inviable por debajo o por encima de ese rango, cuyos límites son los marcos en la evolución. La selección natural, establece límites.

Durante la evolución humana ha habido presión para desarrollar ciertas características. Entre ellas:

- el desarrollo de cerebros cada vez más grandes. Su límite prenatal, el tamaño del canal del parto en la mujer adulta, ha sido obviado por la selección natural, protegiendo el cerebro con varias placas no fusionadas en lugar de una coraza rígida, permitiendo a los humanos nacer con cerebros más grandes.
- la capacidad para sobrevivir en la altitud. Su límite, depende de poder inhalar oxígeno. Los humanos viven difícilmente a más de 2.500 metros. En los Andes o el Himalaya sobreviven por adaptación a ese ambiente durante generaciones, incrementando su capacidad pulmonar y compensando la reducida presión parcial de oxígeno. Estas adaptaciones son rasgos darwinianos verdaderos.
- la capacidad para metabolizar nutrientes críticos para la vida. Nuestra evolucionada fisiología está diseñada para una dieta muy diferente de la occidental; junto a falta de ejercicio, consumo de almidones (azúcares encubiertos) y azúcares, presionan a nuestro sistema digestivo a modular la energía de almacenamiento con el consumo de energía, conduciendo a diversas condiciones médicas crónicas.

En medicina evolutiva, existen distintas causas en la enfermedad: causas próximas y últimas. **Causas próximas:** los factores subyacentes inmediatos, fisiológicos o anatómicos, responsables de conductas o reacciones fisiológicas. **Causas últimas** afectan a poblaciones y especies durante periodos de tiempo prolongados (millones, más que docenas de años). Por ejemplo:

- Fiebre. Su *causa próxima (inmediata)* es una infección. *Evolutivamente*, es un "mecanismo de defensa del huésped" de nuestro sistema inmune evolucionado, que acelera reacciones inmunológicas y reduce la reproducción de muchos patógenos. No precisaría tratamiento, salvo en determinadas situaciones.
- Ganancia de peso (obesidad). Una *explicación "próxima"* sería: el cuerpo absorbe demasiadas calorías (come mucho y hace poco ejercicio), depositando exceso de grasa; se aconsejaría modificar la dieta y aumentar el ejercicio. Una *explicación "última"*: una ventaja adaptativa que permite almacenar grasa durante tiempo de excesos, proporcionando más éxito en la supervivencia y reproducción, en la escasez.

2. ASIGNACIÓN INDIVIDUAL DE OBESIDAD DE LAS DISTINTAS POBLACIONES: "GLOBESITY".

La obesidad visceral es un componente clave e independiente para el desarrollo de SM (obesidad central, presión arterial elevada, triglicéridos elevados, colesterol-HDL bajo e hiperglicemia del ayuno) [Alberti *et al.*, 2005; Cameron *et al.*, 2009].

La morbilidad de la obesidad es muy alta y es la causa indirecta de muchas muertes en el mundo. Hoy día, aun países del tercer mundo (Latinoamérica, Oriente Medio, islas del Pacífico e incluso África), están sufriendo la obesidad epidémica que ha sido denominada "globesity" [WHO, 2008; James, 2008]. Se ha adelantado la hipótesis de que genes ahorradores se han fijado a nuestro genoma durante cientos de años para prevenir el hambre, frío y calamidades diversas que dificultan la alimentación [Neel, 1999]. Cualquiera puede hacer ejercicio y esto no está impreso en nuestros genes por la evolución; no hacerlo, es una causa principal de obesidad en muchas familias. Otras causas ambientales de obesidad tampoco están impresas en el genoma humano (alimentación regular, sobrealimentación). No obstante, excepto genes únicos causantes directos de obesidad (menos del 5%) [Beales *et al.*, 2009], la mayoría de los individuos obesos tiene una predisposición poligénica, además de factores ambientales para adquirir esta enfermedad [Bouchard *et al.*, 2004].

La evidencia de la contribución genética a la obesidad procede de modelos epidemiológicos. La causa de la "globesity" ("globesity") [WHO, 2008; James, 2008] actualmente es, la mayoría de las veces, conductas que favorecen a los alelos predisponentes existentes en muchos genes para que se activen. Uno de los genes que se ha mostrado que induce SM o enfermedades relacionadas ha sido el alelo PC-1 Gln121.

Está evidenciado que el gen PC-1 está asociado a SM/obesidad [McAteer *et al.*, 2008; Wan *et al.*, 2006]; estudios en poblaciones urbanas heterogéneas no relacionadas pueden haber enmascarado

resultados de asociación positivos por una comparativamente baja predisposición del poder del polimorfismo PC-1 entre otros genes predisponentes y la heterogeneidad genética de los individuos analizados [Keshavarz *et al.*, 2006; Weedon *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2011]. Analizar individuos con un trasfondo genético más similar puede resultar útil, aunque diferentes grupos étnicos pueden tener diferentes genes o alelos de susceptibilidad, como ocurre con otras patologías, por ejemplo, la espondilitis anquilosante [Khan, 1995].

2.1 LA OBESIDAD EN LOS AMERINDIOS: SU DEFINICIÓN

Los amerindios constituyen un grupo étnico que vive habitualmente en países de Centro y Suramérica, muchos en áreas rurales, algunos en zonas remotas de difícil acceso. Muestran rasgos antropométricos definidos, tendencia a la endogamia, escaso contacto con otras etnias y culturas, y su dieta suele ser poco elaborada. Por presiones socioeconómicas, han migrado mayoritariamente a América del Norte y continente europeo, buscando mejores oportunidades. La nueva ubicación y situación social ha modificado su entorno, costumbres y dieta adoptando los occidentales, con vida urbana, estrés, sedentarismo, excesivo aporte calórico y, en consecuencia, aparición de obesidad e incremento de los factores de riesgo cardiovascular.

La obesidad analizada en diferentes estudios en el contexto del SM valora distintos puntos de corte del perímetro de la cintura para definir la obesidad. El panel de expertos de la ATPIII, lo establecía en ≥ 102 cm. en hombres y ≥ 88 cm. en mujeres [(ATP III) *final report*. 2001].

Desde el año 2003, la inmigración de amerindios de Centro y Suramérica a la Comunidad de Madrid ha sido masiva, alcanzado un 8% de su población total (datos de la Consejería de Sanidad: Tarjetas sanitarias), aunque últimamente está disminuyendo.

El grupo de Arnaiz Villena estudió, entre mayo de 2007 y Agosto de 2010, una población amerindia inmigrante a la Comunidad de Madrid, oriunda de varios países andinos (Ecuador, Perú, Bolivia y Colombia) y de Centroamérica, entre adultos —hombres y mujeres— candidatos a donar voluntariamente sangre en el Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid. Se les ofreció participar en este estudio para DEFINIR por primera vez, de forma directa, los PUNTOS DE CORTE de la medida de la CIRCUNFERENCIA o PERÍMETRO DE LA CINTURA en hombres y mujeres para discriminar OBESIDAD VISCERAL en esta población amerindia inmigrante y su posible extrapolación a los amerindios [Arnáiz-Villena *et al.*, 2012].

Definir el punto de corte del PC en amerindios adultos sanos, es particularmente importante, para:

- 1) controlar el incremento de obesidad y SM en América Central, Sur, y Norte donde aumentan alarmantemente la morbilidad y mortalidad, básicamente por problemas cardiovasculares secundarios [Kurian *et al.*, 2007], mediante programas preventivos de salud.
- 2) planificar programas preventivos para amerindios migrantes a países con amplia comunidad amerindia ya residente (EEUU, España y otros), alertándoles de los riesgos asociados a su cambio de entornos y hábitos.

- 3) El Índice de Masa Corporal (IMC), otro parámetro para valorar la obesidad, define menos claramente la obesidad visceral que el perímetro de cintura [Janssen *et al.*, 2002; Janssen *et al.*, 2004, Wei *et al.*, 1997]. El PERÍMETRO DE CINTURA, por su sencillez, es más útil en la atención primaria en países de Centro/Suramérica, especialmente en áreas aisladas de acceso difícil a otras tecnologías, para predecir y controlar la obesidad, el SM y sus complicaciones cardiovasculares.

Además, se deben establecer programas específicos de trasplante terapéutico en países con alta incidencia de migración de amerindios. Estos, son muy similares entre sí en parámetros antropométricos, genéticos y lingüísticos [Arnaiz-Villena *et al.*, 2010; Greenberg *et al.*, 1986], y en amerindios de Centro y Suramérica [Salzano *et al.*, 2005].

3. EL SÍNDROME METABÓLICO

3.1 DEFINICIÓN DE SM, ENTIDAD FISIOPATOLÓGICA

El Síndrome Metabólico (SM) es una entidad clínica especial en la que un complejo de "factores" interrelacionados (fisiológicos, bioquímicos, clínicos y metabólicos) confieren un alto riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular (2 veces más riesgo en los 5-10 años siguientes y posteriores) y/o DT2 (5 veces más riesgo) y todos ellos causan mortalidad. Estos factores, ocurren más frecuentemente juntos que solos y/o por azar y suelen tener una causa incierta (lo que define a un "síndrome"). Estos factores de riesgo y su agrupación se conocen hace décadas. La patogenia de cada componente y la del SM en su totalidad es compleja y no suficientemente conocida en su totalidad. Se han considerado sus ejes básicos la obesidad central y la resistencia a la insulina (RI) (dificultad en la utilización de glucosa).

Son factores constituyentes del SM: resistencia a la insulina, disglucemia (glucosa elevada en ayunas), obesidad (particularmente adiposidad central, ABDOMINAL), dislipidemia aterogénica (triglicéridos elevados, bajo colesterol lipoproteico de alta densidad (colesterol-HDL), presión sanguínea elevada, disfunción endotelial, susceptibilidad genética, estado hipercoagulable (por diversos factores protrombóticos) y estrés crónico. Se conoce la asociación de la inflamación crónica con la obesidad visceral y la resistencia a la insulina (caracterizada por producción anormal de adipocitoquinas, como factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleukina 1 (IL-1), IL-6, leptina y adiponectina. La interacción entre componentes del fenotipo clínico con su fenotipo biológico (resistencia a la insulina, dislipidemia, etc.) contribuye al desarrollo de un estado proinflamatorio y, posteriormente una inflamación vascular subclínica, crónica, que modula y resulta en un proceso aterosclerótico.

La población portadora de estos factores, en riesgo de padecer SM, debe inicialmente modificar su estilo de vida (dieta, otros hábitos, ejercicio y conductas); se añadirán fármacos a los individuos cuyos factores de riesgo no se reducen con las pautas anteriores [Kaur, 2014].

El SM es una entidad frecuente, aumentando su prevalencia mundial (habiéndose acuñado el término "globesity") [WHO, 2008; James, 2008]. Se relaciona en gran parte con el aumento de la obesidad y estilos de vida sedentarios de la población. Su prevalencia es diferente entre las poblaciones, debido a la influencia de la raza, sexo, edad y porcentaje de cada uno de los componentes del síndrome, resultando un problema de salud mundial, con elevados costes sanitarios para los países por la morbilidad y mortalidad de las patologías asociadas, circunstancias a mejorar urgentemente: en **salud pública global**, modificando los estilos de vida de la población de todas las naciones para reducir la obesidad e incrementar la actividad física; **en clínica**, identificando a pacientes con SM para poder reducir sus múltiples FR.

Desacuerdos sobre su terminología y los criterios diagnósticos propuestos sucesivamente, crearon confusión para identificar clínicamente a los pacientes con estas características. Se acepta el término "SM" para designar la presencia de múltiples factores metabólicos de riesgo de enfermedad cardiovascular y diabetes. El SM no es un indicador de riesgo absoluto de enfermedad cardiovascular (no contiene muchos factores que lo determinan: edad, sexo, número de cigarrillos consumidos, niveles de colesterol-LDL, etc.).

3.2 RELACIÓN DEL SÍNDROME METABÓLICO (SM) CON LA OBESIDAD. CIRCUNFERENCIA DE LA CINTURA

Se conocían factores relacionados con el riesgo cardiovascular hace tiempo. En 1923, se asoció hipertensión—hiperglucemia—gota [Kylin 1923]. Después, se han asociado obesidad—alteraciones metabólicas. Reaven describió alteraciones metabólicas cuya fisiopatología central era la Resistencia a la Insulina (RI: captación de glucosa por debajo del cuartil inferior para la población estudiada, bajo condiciones de hiperinsulinemia y euglucemia) [Reaven, 1988]. Denominó al cuadro SÍNDROME X, integrado por: RI—hiperglicemia—HTA—colesterol bajo, con lipoproteínas de alta densidad—triglicéridos VLDL elevados, omitiendo la obesidad, sorprendentemente. Son sinónimos para describir la entidad: SM Múltiple, Síndrome de RI, Deadly Quartet, síndrome DROP (Dislipidemia-RI-Obesidad-Presión sanguínea alta). El más popular es SM [Eckel et al., 2005].

La obesidad, componente esencial, especialmente la visceral, se incluye en el concepto de SM en todas las definiciones posteriores, aunque valorada empleando diferentes criterios objetivos mensurables: relación cintura cadera, circunferencia o perímetro de la cintura e índice de masa corporal.

3.2.1 EVOLUCIÓN HISTÓRICA DEL CONCEPTO DE SÍNDROME METABÓLICO

La evolución histórica de las definiciones de Síndrome Metabólico en adultos [Kassi et al., 2011; Grundy et al., 2005], se resume a continuación y en la Tabla 3.

EVOLUCIÓN HISTÓRICA. CRITERIOS para el diagnóstico clínico de SM

1998	<p>OMS [Alberti & Zimmet, 1998]</p> <p>RI DT2 ó glucosa en ayuno empeorada (IFG) (>100 mg/dl) ó Tolerancia empeorada a glucosa (ITG)</p> <p>+ 2 FR CINTURA-CADERA (C-C) (H 0.90, M 0.85) ó IMC > 30 kg/m² • Triglg.≥150 mg/dl y/o col-HDL (H 40, M<50 mg/dl) • TA≥14/9 • microalbuminuria</p>
1998	<p>EGIR (European Group for the Study of Insulin Resistance criteria) [Balkau & Charles, 1999]</p> <p>RI Insulina Plasmática ↑ (nivel > 75 percentil de individuos no diabéticos)</p> <p>+2 FR PC H≥94, M≥80 • Triglg.≥150mg/dl y/o col-HDL: H y M<39mg/dl • TA≥14/9 o en Tto. • Glucosa≥110</p>
2001	<p>National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel ATP III (ATP III) [(ATP III) final report. 2001]</p> <p>3 FR PC H≥102, M≥88 • Triglg.≥150 mg/dl • col-HDL H<40, M<50 mg/dl • TA≥13/85 • Glucosa ≥100</p> <p>2003: American Diabetes Association (ADA) cambió glucosa empeorada en ayuno a • Glucosa 100mg/dl</p>
2003	<p>AACE (American Association of Clinical Endocrinology) [Einhorn et al., 2003]</p> <p>RI Tolerancia empeorada a glucosa (IGT) (>100 mg/dl)</p> <p>+ 2 ó más FR: IMC> 25 Kg/m² • Triglg.≥150 mg/dl y/o col-HDL H<40, M<50 mg/dl • TA≥13/85</p>
2004	<p>American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute (AHA/NHLBI) [Grundy et al., 2004]</p> <p>Cualquiera de los 5 siguientes FR:</p> <p>PC H≥102, M≥88 • Triglg.≥150mg/dl • col-HDL H<40, M<50 mg/dl • TA≥130/85 • Glucosa ayuno ≥ 100mg/dl</p>
2005	<p>IDF [Alberti et al., 2005]</p> <p>Obesidad Central definida como PC (pero se puede asumir si IMC > 30kg/m²) con valores de especificidad étnica</p> <p>Europeos H > 94, M > 80; Surasiáticos, chinos y japoneses H>90, M>80. Etnias de América Sur y Central: surasiáticos, datos disponibles; africanos subsaharianas, este del Mediterráneo Oriente Medio (árabes), emplear datos europeos.</p> <p>+2 FR de éstos: Triglg.≥150mg/dl • col-HDL H<40; M<50mg/dl • TA ≥130/85 • Glucosa≥100mg/dl</p>

Tabla 3. EVOLUCIÓN HISTÓRICA. Criterios para diagnóstico clínico de SM. (De Grundy et al., 2005, adaptado)

PARÁMETROS	OMS (Alberti & Zimmet, 1998)	EGIR (Balkau & Charles., 1998)	ATP III (Expert Panel., 2001)	AAC (Einhorn et al., 2003)	AHA/NHLBI (Grundy et al., 2004)	IDF (Alberti et al., 2005)	CRITERIOS CONSENSUADOS (Alberti et al., 2009)
RESISTENCIA a INSULINA (RI)	GLUCOSA Intolerancia empeorada (IGT); empeorada en ayuno (IFG), DMNID o SENSIBILIDAD ↓ a Insulina + 2 de los siguientes	INSULINA PLASMÁTICA >percentil 75 + 2 de los 5 siguientes	(ningun criterio de RI) + 3 de los 5 siguientes	IGT o IFG + CUALQUIERA de los 5 siguientes, basados en juicio clínico	CUALQUIERA de los 5 siguientes		
OBESIDAD Ratio Cintura-Cadera (C-C) PERÍMETRO CINTURA (cm.) IMC (kg/m ²)	C-C V > 0.90 M > 0.85 y/o IMC > 30	PC V ≥ 94 M ≥ 80	PC V ≥ 102 M ≥ 88	IMC > 30	PC V ≥ 102 M ≥ 88	PC ESPECÍFICO de población + 2 de los 4 siguientes	PC DEFINICIONES ESPECÍFICAS: población y país
LÍPIDOS TRIGLICÉRIDOS mg/dL	≥ 150 y/o	≥ 150 y/o	≥ 150	≥ 150 y	≥ 150	≥ 150 o Rx	≥ 150 y
Colesterol-HDL	V < 35 M < 39	V < 35 M < 39	V < 40 M < 50	V < 40 M < 50	V < 40 M < 50	V < 40 M < 50 Rx	V < 40 M < 50
TA mm Hg	≥ 140/90	≥ 140/90 o HTA a Rx	≥ 130/85	≥ 130/85	≥ 130/85	≥ 130 sistólica ≥ 85 diastólica HTA a Rx	≥ 130 sistólica y/o ≥ 85 diastólica
GLUCOSA mg/dL	IGT, IFG o DT2	IGT, IFG (no diabetes)	≥ 100 incluida diabetes	≥ 110 (no diabetes)	≥ 110	≥ 100 incluida diabetes	≥ 100 (ayunas) o > como indicador alternativo
OTROS	Microalbuminuria			Otros datos de RI			

3.2.2 PERÍMETRO DE CINTURA Y OBESIDAD

Distintas organizaciones, han estudiado el valor del PC en grupos de población (Tabla 4).

Tabla 4. PERÍMETRO de CINTURA (cm.) para OBESIDAD, según varias Organizaciones (De: *Alberti et al., 2009*)

ORGANIZACIÓN <i>(Referencia)</i>	POBLACIÓN	PC (cm.) recomendado para OBESIDAD ABDOMINAL	
		HOMBRE	MUJER
(Grundy et al., 2005) IDF	EUROPEOS	≥94	≥ 80
	ASIÁTICA incluido JAPONESA	≥90	≥80
	Oriente Medio, Mediterránea	≥94	≥80
	África subsahariana	≥95	≥80
	Etnias CENTRO-SURAMÉRICA	≥90	≥80
(WHO Technical Report series 894, 2000) OMS	CAUCASIANOS	≥94 (riesgo ↑)	≥80 (riesgo ↑)
		≥102(riesgo ↑ ↑)	≥88 (riesgo ↑ ↑)
(Nal. Institute Health. EEUU., 1998) ATP III	EEUU	≥102	≥88
(2003; Khan et al., 2006) Health Canada	CANADÁ	≥102	≥88
(Graham et al., 2007) Europ. Cardiovasc. Soc.	EUROPEA	≥102	≥88
(Hara et al., 2006) OMS	ASIÁTICA	≥90	≥80
(Oka et al., 2008) Japanese Obesity Society	JAPONESA	≥85	≥90
(Examination Committee of Criteria for Obesity Disease in Japan, 2002) Cooperative Task Force	CHINA	≥85	≥80

2009, IDF [*Alberti et al., 2005*] **y AHA/NHLBI** [*Grundy et al. 2004*], **CONSENSÚAN los CRITERIOS de SM** [*Alberti et al., 2009*] (Tablas 3, 5a y 5b):

Tabla 5a. SÍNDROME METABÓLICO. CRITERIOS “CONSENSUADOS” (De: *Alberti et al., 2009*)

- **Constituyen SÍNDROME METABÓLICO 3 FACTORES DE RIESGO o PARÁMETROS** (Tabla 3)
- La **OBESIDAD ABDOMINAL** NO ES CRITERIO PREVIO de SM, pero **SÍ ES 1 de los 5 criterios**
- **Todos los FACTORES DE RIESGO, tienen un ÚNICO VALOR DE CORTE** (en ayunas),
Trigl.≥150mg/dl • col-HDL H<40md/dl, M<50mg/dl • TA≥130/85 • Glucosa≥100mg/dl
- **EXCEPTO: PERÍMETRO DE CINTURA, con definiciones específicas de población y país,**
que se establecerá, utilizándose entretanto umbrales nacionales o regionales (reflejados en la Tabla 5b).

Tabla 5b. PERÍMETRO DE CINTURA (cm.): CONSENSO de valores para obesidad (De: *Alberti et al.*, 2005 y 2009)

GRUPO ÉTNICO / PAÍS	PERÍMETRO CINTURA (PC) (cm.): OBESIDAD CENTRAL	
	HOMBRE	MUJER
EUROPEOS	≥94	≥80
Surasiáticos (China, Malasia, Indo-asiática)	≥90	≥80
Chinos	≥90	≥80
Japoneses	≥85	≥90
Etnias de CENTRO / SURAMÉRICA	Usar datos recomendados de SURASIÁTICOS, hasta disponer de datos más específicos	
Oriente Medio, Mediterránea	Usar datos europeos hasta disponer de datos más específicos (árabes)	
África subsahariana	Usar datos europeos hasta disponer de datos más específicos (árabes)	

Definir puntos de corte de PC para la obesidad abdominal es complicado, por diferente relación con otros factores de riesgo metabólico y entre sexos y etnias, requiriéndose estudios prospectivos para obtener valores fidedignos en diferentes grupos étnicos y mujeres. Al consensuar los criterios de SM [*Alberti et al.*, 2009], consideran válido mantener los criterios de PC establecidos por la IDF previamente (Tablas 5a y 5b)

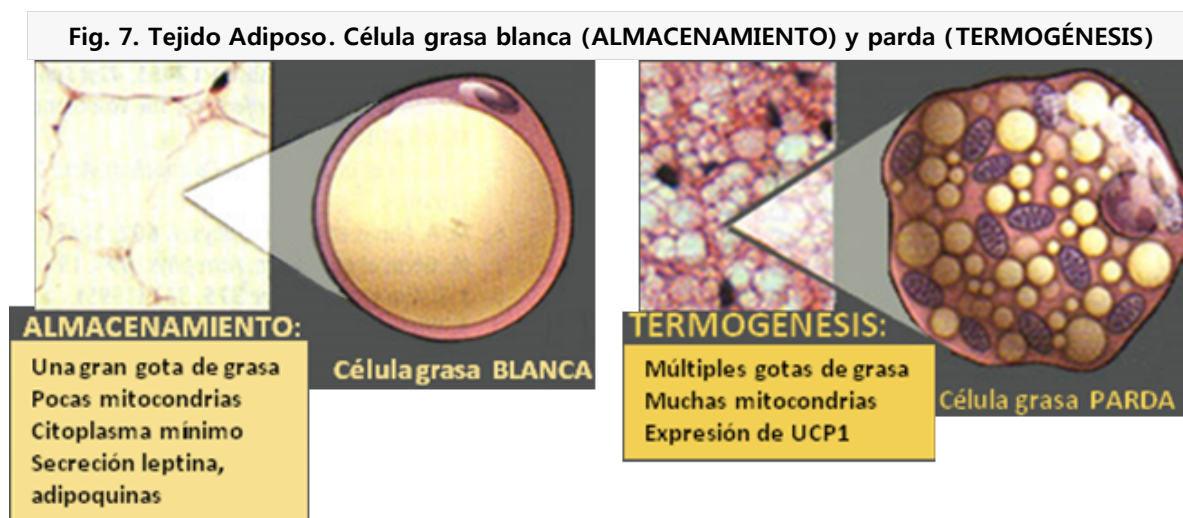
4. LOS GENES DE OBESIDAD Y SU HERENCIA

Se consideran GENES CANDIDATOS los identificados según la patología que su alteración causa en animales, o de los que se sospecha su relación con algún proceso fisiológico del que dependa esa patología, como los implicados en diferentes procesos (regulación de la homeostasis de la glucosa, metabolismo lipídico, coagulación y fibrinólisis, secreción y acción de la insulina, y los que se piensa pueden ser relevantes en la patogénesis de la DT2, obesidad central y otros componentes del SM) [*Gonzalez-Sanchez JL* (2003a)]. El conocimiento inadecuado de estos mecanismos restringe el uso de la búsqueda de estos genes candidatos para estudiar enfermedades multifactoriales como el SM. Se han identificado 547 genes candidatos para la susceptibilidad a la obesidad basados en la evidencia a partir de estudios en animales, síndromes mendelianos, estudios de ligamiento, de asociación genética y de expresión [*Vimalaswaran et al.*, 2012].

Existen diversos genes que son expresados en células de las distintas patologías que constituye el SM. Actualmente sólo se conoce la función de una pequeña fracción de posibles genes candidatos relacionados en la patogénesis del SM.

4.1 GENES RELACIONADOS CON SÍNDROME METABÓLICO Y OBESIDAD

Las bases genéticas de la obesidad sólo se han aceptado recientemente. En familias de gemelos monocigóticos / dicigóticos, y con hijos biológicos y adoptados etc., se ha identificado, clonado y caracterizado genes, cuya mutación podría causar obesidad. Estos genes simples no causan (salvo casos aislados) la obesidad común en humanos, más compleja. Unos, promoverían obesidad por interacción gen-gen o genes-ambiente. Otros, se relacionan con el control del peso en humanos [Palou *et al.*, 2000].



El **Tejido adiposo**, considerado antes depósito graso pasivo, protector y termorregulador [Ahima & Flier, 2000a], ahora se interpreta como un activo órgano endocrino-metabólico, multifuncional (Fig. 7). La grasa parda debe su calor al gran número de mitocondrias existentes en su citoplasma; sus células, los adipocitos, están rodeados por una rica vascularización y poseen numerosas terminaciones nerviosas. Su papel en la termorregulación corporal, con la proteína desacoplante de la termogénesis (UCP1) es fundamental en hipótesis sobre el origen evolutivo de la obesidad [Sellayah *et al.*, 2013], quienes refieren otros estudios sobre el tejido adiposo marrón que describen el conocimiento genético y las bases moleculares del desarrollo del tejido adiposo marrón para estimular el crecimiento de adipocitos marrón a partir de células madre [Carobbio *et al.*, 2013; Villarroya *et al.*, 2013]. Manipulando las líneas de células madre humana que expresan marcadores del tejido adiposo marrón se puede desarrollar potentes inductores de la adipogénesis marrón, promover su cultivo a tejido adiposo maduro y funcional y trasplante ulterior. Podría ser efectivo para tratar la obesidad, basada en la opinión de que, quizá, individuos propensos a obesidad tienen muy poco o ningún tejido adiposo marrón [Sellayah *et al.*, 2013]

Se han identificado numerosos péptidos sintetizados/expresados en el tejido adiposo y liberados a la circulación para que ejerzan a distancia, en otros tejidos, acciones autocrinas/paracrinas y endocrinas [Gonzalez-Sanchez, 2003a].

Se resume a continuación una relación de genes relacionados con la obesidad y Síndrome Metabólico, profundizando seguidamente en el gen PC-1/ENPP1, motivo de este estudio (Tabla 6).

Tabla 6. GENES RELACIONADOS con Obesidad y SM. RESUMEN PROPIO (De: Gonzalez-Sanchez, 2003a; Vimalaswaran et al., 2012)

GEN		SÍM BOLO	CROMO SOMA	POLIMOR FISMO	ASOCIACIÓN Polimorfismo/ Obesidad Alteraciones SM	Referencias
GLICOPROTEÍNA de MEMBRANA PC-1 en mayoría de células	ENPP1/ PC-1	ENPP1 / PC-1	En 25 exones en 6q22-q23	Lys121Gln en exón 4	CAUCASOIDES: SI Otras etnias: NO	Este estudio
proteína del tejido adiposo	ADIPONECTINA	ADIPOQ	3q27	Varios SNPs: exón 2 (45T→G) Intrón 2(276G→ T) genotipos G/G posiciones 45 y 27	Hipoadiponectinemia ¿defecto determinado genéticamente que contribuye a alteraciones de SM?	Hara K et al., 2002 Menzaghi C et al., 2002 Arnaiz-Villena et al., 2013b
receptores nucleares activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs)	RECEPTORES PPARγ 2 isoformas: PPARγ-1 , PPARγ-2	PPARG	3p25	Varias Mutaciones. Pro12Ala en exon B	predispone a obesidad, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, colesterol-HDL bajo y a SM	Frederiksen L et al., 2002 Arnaiz-Villena et al., 2013a
H. reguladora del apetito, liberada por adipocito	LEPTINA (LEP	LEP	7q31.3	mutación	obesidad experimental y familiar infantil con hipogonadismo	Montague CT et al., 1997 Strobel A et al., 1998
Regulación Termogénesis	UCP1 Familia UCP's: proteínas desacoplantes	UCP1	4q28-q31		poca contribución a predisposición genética	Vidal-Puig AJ, 2000
ADRENORECEPTORES: Familia de proteínas Catecolamina sensibles β3, β2	RECEPTOR β3-ADRENÉRGICO Lipolisis Tej.Adiposo	ADRB3	8p12-p11.2	Trp64Arg	posible	Clement K et al.,1996 Evans D, Minouchehr S et al.,2000
	RECEPTOR β2-ADRENÉRGICO H. lipasa-sensible	ADRB2	5p31-q32	varios: Gln27Glu	probable Datos discordantes en diversas etnias	Ukkola O et al.,2001
Péptido: citoquina	Factor de NECROSIS TUMORAL α (TNF-α)	TNF	6p21.3	. -308 G/A	probable No demostrado	Fernández Real JM et al.,1997
Otros genes relacionados	NEUROPEPTIDO Y Proteína Agouti	NPY			pocos datos en humanos	
H. segregada por tejido adiposo	RESISTINA	RTN	19p13			Steppan et al., 2001 Vidal-Puig&O'Rahilly, 2001
Familia de proteínas	SUSTRATO del RECEPTOR de INSULINA (IRS-1)	IRS1	2q36	múltiples: Gly972Arg	SI	Sigal RJ et al.,1996
Síntesis de glucógeno	GLUCÓGENO SINTASA			varios	Datos contradictorios	Fenger y col.,2000 Rissanen J, Pihlajamäki J, et al.,1997
H. Lipasa sensible (expresada en tejido adiposo)	LIPOPROTEÍNA LIPASA (LPL)	LPL		Mutaciones en la región del promotor. Polimorfismos. Asn291Ser	potenciales	Wittrup HH et al., 1999
proteína Intestinal de unión a ácidos grasos (FABP) en cél.epiteliales de intestino delgado	FABP2	FABP2		Ala54Thr	Indios Pima y población Japonesa: SI Caucasoides: NO	Baier LJ et al.,1995 Yamada et al.,1997 Tahvanainen E et al., 2000 Erkkila AT et al.,2002

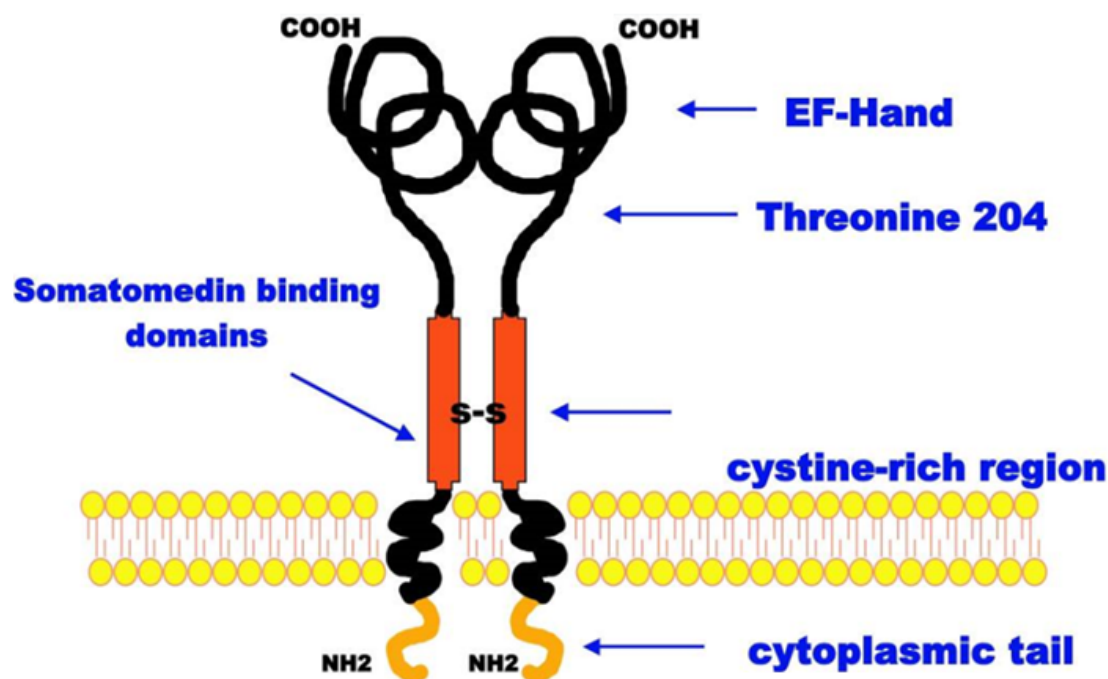
5. EL GEN PC-1 Y LA GLICOPROTEÍNA DE MEMBRANA PC-1

En caucasoides, se han detectado varios genes y sus alelos relacionados con la obesidad cutánea y de órganos internos, visceral. La obesidad parece ser un inductor de Resistencia a la Insulina [Unger *et al.*, 2003]. Varios genes, relacionados con la sensibilidad y/o Resistencia a la Insulina, modulan negativamente su acción —como el gen PC-1— que codifica a la glucoproteína-1 de membrana de la célula plasmática (*PC-1*), donde se caracterizó inicialmente. Se expresa en las células de músculo esquelético, hígado, placenta y tejido adiposo [Goding *et al.*, 1998], entre otros.

5.1 La GLICOPROTEÍNA DE MEMBRANA PC-1

Es una proteína transmembrana con múltiples funciones bioquímicas. Comprende dos subunidades. Es un homodímero de 230-260 kDa, unido mediante un enlace disulfuro (S-S). Posee tres dominios: **citoplasmático pequeño** (amino) **NH2-terminal**, **transmembrana** y **extracelular grande** (carboxilo) **COOH-terminal**, con actividad fosfodiesterasa [Goding *et al.*, 1998; Goldfine *et al.*, 2008], que inhibe la señalización de la insulina por interacción proteína-proteína con la subunidad α del receptor de la insulina [Maddux *et al.*, 1995, 2000]. Reduce la función receptora de la insulina y su señalización posterior. Inhibe la actividad tirosin-quinasa del receptor de la insulina (Fig.8).

Fig. 8 Molécula de GLICOPROTEÍNA PC-1 en membrana celular [Goldfine *et al.*, 2008]



En individuos con Resistencia a la Insulina (RI) el contenido elevado de glicoproteína PC-1 (sobreexpresión) en células de músculo y tejido adiposo se relaciona con la RI in vivo [Frittita *et al.*, 1998; Goldfine *et al.*, 2008]. En ratones, la sobreexpresión de la proteína PC-1 humana en músculo e hígado induce a la RI e hiperglicemia [Dong *et al.*, 2005], sugiriendo que actuaría sobre la sensibilidad a la insulina y aumentaría el riesgo de desarrollar DT2.

5.2 EL GEN PC-1: ECTONUCLEOTIDE PYROPHOSPHATASE/PHOSPHODIESTERASE 1/ PLASMA CELL MEMBRANE GLYCOPROTEIN PC-1 (ENPP1/PC-1 humano). Su FUNCIÓN

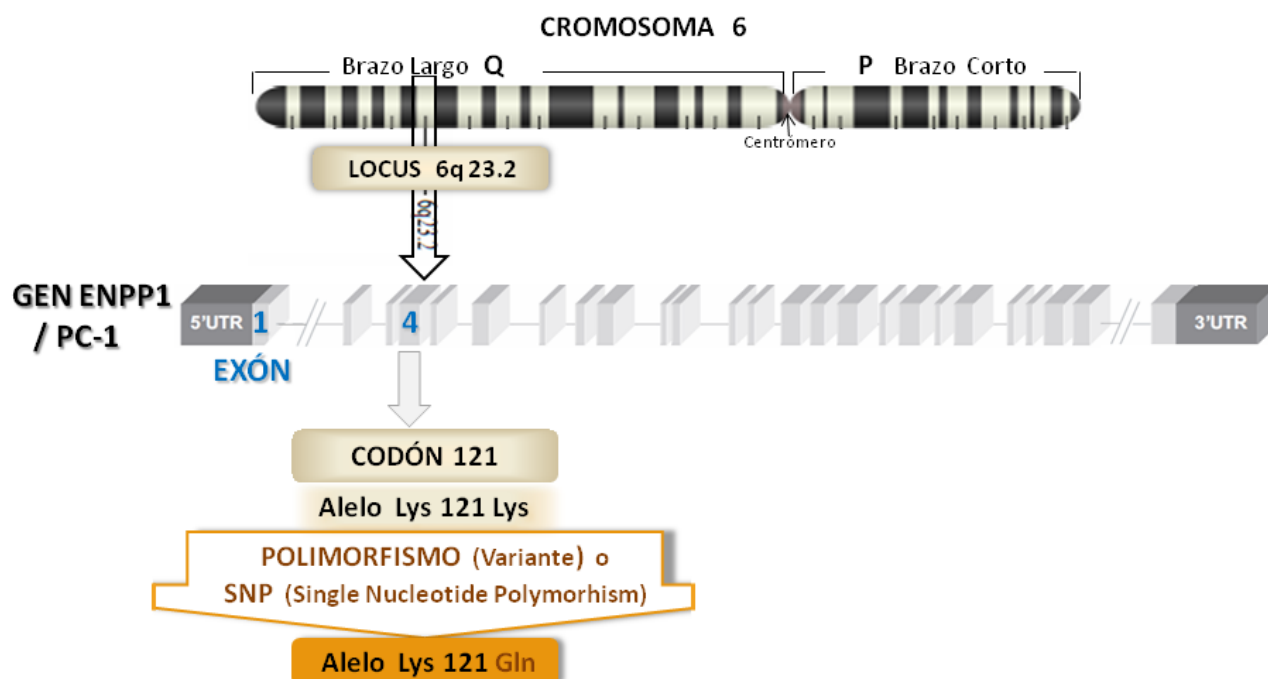
Es un gen codificador de proteína, miembro de la familia ecto-nucleotido pirofosfato/fosfodiesterasas (ENPP)

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?LinkName=nucore_gene&from_uid=5052056].

La proteína codificada por el gen, glicoproteína de membrana PC-1, tiene una amplia especificidad y escinde una variedad de sustratos, incluyendo enlaces fosfodiéster y enlaces pirofosfato de nucleótidos y azúcares nucleótidos; puede hidrolizar trifosfatos 5' nucleósidos a sus correspondientes monofosfatos; también puede hidrolizar polifosfatos diadenosina. Diversas mutaciones en este gen han sido asociadas con calcificación arterial infantil "idiopática", osificación del ligamento longitudinal posterior de la columna y resistencia a la insulina

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=Retrieve&dopt=full_report&list_uids=5167].

Fig. 9. Cromosoma 6 y gen PC-1. POLIMORFISMO Lys121Gln (K121Q) (De Goldfine *et al.*, 2008, adaptada)



El GEN ENPP1 humano, en adelante denominado PC-1, se localiza en la región 6q22-q23 (exón 4) del cromosoma 6 [Buckley *et al.*, 1990] organizado en 25 exones (Fig. 9). Un **exón** es la región de un gen que codifica proteína. El ARNm maduro que dirige la síntesis de una proteína está compuesto sólo de secuencias correspondientes a exones. La identificación del gen PC-1 es: Gene ID: 5167 [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5167>]. En el cromosoma 6 se han encontrado otros genes relacionados con diabetes [Duggirala *et al.*, 2001]. Se ha demostrado relación entre esta región cromosómica y la resistencia a la insulina [Abate *et al.*, 2003; Pizzutti *et al.*, 1999], la DT2 [Abate *N et al.*, 2005] y la obesidad; es decir, relación con componentes principales del Síndrome Metabólico [Wan *et al.*, 2006 y Beales *et al.*, 2009], en caucasoides europeos y americanos, y en orientales. La genética de alrededor del 95% de los casos de obesidad y otros componentes del SM incluye varios genes, que portan algún **polimorfismo**.

El gen PC-1 tiene un **polimorfismo de nucleótido único** (Single Nucleotide Polymorphism-SNP) en el codón 121 donde una lisina (Lys) es alternativa a glutamina (Gln): **la variante polimórfica PC-1 Lys121Gln (PC-1 Gln121)** (Fig. 9).

La Lisina es un aminoácido ESENCIAL. El organismo no puede sintetizarlo por sí mismo. Se codifica como **'AAA' o 'AAG'**.

La Glutamina, aminoácido NO ESENCIAL, es uno de los 20 aminoácidos que intervienen en la composición de las proteínas y que tienen codones referentes en el código genético. El aminoácido Glutamina, es una cadena lateral de una amida del ácido glutámico, formada mediante el reemplazo del hidroxilo del ácido glutámico con un grupo funcional amina. Está codificada en el ARN mensajero como **'CAA' o 'CAG'**. Al ser aminoácido no esencial, el organismo puede sintetizarlo a partir de grupos amino presentes en los alimentos. Es el más abundante en los músculos humanos (\pm el 60% de los aminoácidos) y está muy relacionado con el metabolismo que se realiza en el cerebro. En ciertas circunstancias se precisa el aporte suplementario en la dieta pues evita la disminución del músculo debido a estrés oxidativo.

La relación entre la secuencia de nucleótidos y la secuencia de aminoácidos de la proteína viene determinada por el código genético, que se utiliza durante el proceso de traducción o síntesis de proteínas en el citoplasma celular. La unidad codificadora del código genético es *un grupo de tres nucleótidos* (**triplete**), representado por las tres letras iniciales de las bases nitrogenadas (Adenina, Citosina, Guanina, Timina: A, C, G, T, respectivamente) (por ej. Triplete: ACT, CAG, TTT). Los tripletes del ADN cromosómico, se transcriben en sus bases nitrogenadas complementarias en el ARN mensajero (ARNm), y en este caso los tripletes se denominan **codones** (para el ejemplo anterior, las bases complementarias serían: UGA, GUC, AAA). En el ribosoma, cada codón del ARN mensajero interacciona con una molécula de ARN de transferencia (ARNt) que contenga el triplete complementario. El ARNt se sintetiza en el nucleoplasma por la enzima ARN polimerasa III y sufre distintos procesos de maduración de ARN.

Hay al menos un ARN de transferencia para cada aminoácido. Cada ARNt por una parte, reconoce y se une a su aminoácido, lo activa y lo transporta al ribosoma, y por otra, reconoce un

tripleto de nucleótidos que codifica ese aminoácido en el ARN mensajero (ARNm). El ARNt hace posible que en cada posición se una el aminoácido correcto a la cadena nascente de proteína durante la traducción.

El código genético es 'degenerado' y algunos aminoácidos están codificados por más de un codón. Con frecuencia los codones que codifican un mismo aminoácido comparten las 2 primeras bases del codón. En estos casos un mismo ARNt puede ser capaz de reconocer a los diferentes codones que codifican su aminoácido basando su reconocimiento en las 2 primeras bases compartidas. En otros casos es necesario que haya un ARNt diferente para reconocer cada codón.

Uno de los genes que se ha demostrado inductor de SM o enfermedades relacionadas ha sido el alelo PC-1 Gln121. La razón más probable de que la variante PC-1 Gln121 esté asociada al SM es que la molécula de PC-1 interactúa con la subunidad- α del receptor de la insulina [Goding *et al.*, 1998; Maddux *et al.*, 1995]. Un **alelo**, cada una de las formas alternativas que puede tener un gen, se diferencian en su secuencia y se puede manifestar en modificaciones concretas de la función de ese gen.

5.3 PATOLOGÍA DEL GEN PC-1: PC-1 Gln121, ALELO "ENFERMO"

Se ha hallado variantes genéticas ligadas al SM o a sus componentes [Beales *et al.*, 2009]. El gen PC-1, tiene un polimorfismo en un solo nucleótido (polimorfismo de nucleótido único) en el codón 121, donde una lisina (Lys) es alternativa a glutamina (Gln).

El alelo variante Gln121 se ha descrito como un gen que confiere susceptibilidad a la resistencia a la insulina [Abate *et al.*, 2003; Pizzutti *et al.*, 1999], DT2 [McAteer *et al.*, 2008] y OBESIDAD [Wan *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2011], o bien solo el alelo Gln121 confiere susceptibilidad a la obesidad en varones [Tanyolac *et al.*, 2008]. La asociación "variante alélica" PC-1 Gln121—SM parece deberse a que la molécula de la glicoproteína de membrana PC-1 interactúa con la subunidad- α del receptor de la insulina en la membrana celular [Goding *et al.*, 1998; Maddux *et al.*, 1995].

El alelo variante Gln121 es la sustitución en el locus 6q.23.2 del cromosoma 6, exón 4, codón 121, de una lisina (Lys) por una glutamina (Gln). Es decir: cambiar Lys121Lys a Lys121Gln (Fig. 9)

Actualmente, está evidenciado que el gen PC-1 está asociado a SM/obesidad [McAteer *et al.*, 2008; Wan *et al.*, 2006]. Estudios en poblaciones urbanas heterogéneas no relacionadas pueden haber enmascarado resultados de asociación positivos por una comparativamente baja predisposición del poder del polimorfismo PC-1 entre otros genes predisponentes y la heterogeneidad genética de los individuos analizados [Keshavarz *et al.*, 2006; Weedon *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2011]. Analizar individuos con un trasfondo genético más similar puede resultar útil, aunque diferentes grupos étnicos pueden tener diferentes genes o alelos de susceptibilidad, como ocurre con otras patologías, por ejemplo, la espondilitis anquilosante [Khan, 1995].

Está bien establecido que la variante alélica PC-1 Gln121 es un factor de riesgo (considerado alelo 'enfermo') para desarrollar SM o sus componentes en individuos blancos caucásicos (blancos europeos, australianos, americanos, orientales). EVIDENCIAN SU ASOCIACIÓN [McAteer *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2011]. Por el contrario, NO EVIDENCIAN ASOCIACIÓN [Gouni-Berthold *et al.*, 2006; Seo *et al.*, 2008; Grarup *et al.*, 2006; Gonzalez-Sanchez *et al.*, 2003; Keshavarz *et al.*, 2006; Weedon *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2011; Bhatti *et al.*, 2010] y puede ser un efecto etnográfico. Puede deberse a que la población estudiada era urbana no homogénea, que tiende a presentar muchas diferencias en genes diferentes, relevantes y no relevantes, al compararlos con grupos étnicos más homogéneos y es difícil seleccionar estadísticamente un factor de riesgo para un gen en particular.

Recientemente se ha descrito un nuevo gen [Smemo *et al.*, 2014]. Postulan que los SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) asociados a la obesidad dentro de otro gen, el *FTO*, están funcionalmente conectados con la regulación de la expresión de *Irx3*, y que el **gen *Irx3*** es un determinante importante de la masa y la composición corporal. El gen *Irx3* codifica un factor de transcripción altamente expresado en el cerebro. Sus datos representan la primera demostración de la intersección de la biología del gen *Irx3* con la composición de la masa corporal y el metabolismo, trabajo anterior identificó la sobreexpresión de *Irx3* en los adipocitos como una señal de identidad del interruptor molecular observado en los pacientes después de una profunda pérdida de peso tras cirugía bariátrica. Consideran que sus datos indican que el gen *Irx3* puede tener papeles importantes regulando el metabolismo más allá de los que describimos asociados con la expresión de *Irx3* expresión en el hipotálamo, requiriéndose futuras investigaciones para determinar los mecanismos moleculares exactos por los que el gen *Irx3* regula los parámetros metabólicos.

5.4 HERENCIA POLIGÉNICA o MULTIFACTORIAL

Muchas enfermedades muestran agrupación por familias, sin conformar ningún patrón reconocido de herencia mendeliana. Es probable que varios factores, genéticos y ambientales, estén implicados en la aparición de enfermedades, de las que se dice muestran herencia poligénica o multifactorial: **la herencia de fenotipos, determinados por el efecto colectivo de varios genes**. Muy pocas características de los organismos están determinadas por un único gen, sino que un carácter concreto está controlado por múltiples genes.

En la especie humana, están controlados por herencia poligénica o efecto acumulativo de muchos genes (poligenes) diversos caracteres: peso corporal, altura, color de ojos y piel (por eso existen tantas posibilidades y variación), inteligencia, y muchas formas de comportamiento. La herencia poligénica no se expresa como caracteres discretos (como los caracteres mendelianos). Los caracteres poligénicos se expresan como **graduaciones de pequeñas diferencias (una variación continua)**. En los humanos, la altura, es un tipo de herencia poligénica. Al representar gráficamente las diferentes alturas, se evidencia una variación continua (con una altura promedio y variaciones extremas, muy altas y muy bajas). Si la herencia muestra variaciones continuas, está controlada por el efecto aditivo de dos o más pares de genes separados. La herencia de cada gen sigue las reglas de Mendel.

La herencia poligénica o multifactorial ocurre cuando algún carácter se debe a la acción de más de un gen, que puede tener además más de dos alelos, originando numerosas combinaciones causantes de que exista una gradación en los fenotipos; es típico de caracteres cuantitativos (se pueden medir con alguna unidad de medida).

Es decir, la herencia poligénica se distingue por:

- Cuantificarse midiendo más que contando
- Dos o más pares de genes contribuyen al fenotipo
- La expresión fenotípica abarca un rango y no es dualitativa (sí/no).

Los genes que forman un poligen se suelen localizar en cromosomas distintos, y aunque su efecto individual es insignificante sobre el fenotipo, el efecto combinado de todos los genes produce una variedad continua de infinita de fenotipos en la descendencia.

En la herencia poligénica la interacción de muchos pares de genes actúa conjuntamente para determinar un solo fenotipo. Estos caracteres tienden a mostrar una variación cuantitativa en una población; cada uno de estos genes contribuye solo en una pequeña parte al carácter observado.

Se ha relacionado con la obesidad y el Síndrome Metabólico los siguientes genes (Tabla 6):

- de la GLUCOPROTEÍNA DE MEMBRANA PC-1 (ENPP1/PC-1) expresada en la mayoría de las células y motivo de este estudio,
- la hormona LEPTINA reguladora del apetito y liberada por los adipocitos,
- la familia de las PROTEÍNAS DESACOPANTES reguladoras de la TERMOGÉNESIS (UCP1),
- la familia de PROTEÍNAS CATECOLAMINA-SENSIBLES $\beta 3$ y $\beta 2$ (RECEPTORES ADRENÉRGICOS $\beta 3$ y $\beta 2$),
- el FACTOR DE NECROSIS TUMORAL- α (TNF- α),
- la proteína del tejido adiposo ADIPONECTINA,
- el NEUROPEPTIDO Y, y otros genes relacionados con la PROTEÍNA AGOUTI,
- la hormona RESISTINA segregada por el tejido adiposo,
- la proteína SUSTRATO DEL RECEPTOR DE LA INSULINA (IRS-1),
- la GLUCÓGENO SINTASA (encargada de la síntesis del glucógeno),
- de los receptores nucleares activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs), las 2 isoformas: receptores PPAR: PPAR γ -1 y PPAR γ -2,
- la hormona lipasa sensible expresada en el tejido adiposo (LIPOPROTEÍNA LIPASA: LPL) y
- la proteína intestinal de unión a ácidos grasos (IFABP) en las células epiteliales de intestino delgado (FABP2).

5.5 FACTORES EXTERNOS: CAMBIOS DE ALIMENTACIÓN HUMANA Y SOBREALIMENTACIÓN

La teoría antropológica nutricional, explicaría la epidemia actual de diabetes, obesidad, dislipemia e hipertensión [Tajer, 2010], basándose en los postulados de Eaton [Eaton & Konner, 1985].

Investigaciones en yacimientos arqueológicos de la era paleolítica (previa a la agricultura y la ganadería), han detectado que las dietas se componían fundamentalmente de frutas, vegetales, carnes magras muy poco grasas, escaso consumo de sal y fuentes de azúcares de rápida metabolización (similar al actual en primates superiores). La evolución alimentaria humana, ha seguido varios pasos. Al surgir la agricultura y la cocción de alimentos, se incorporaron a la dieta los cereales; con la domesticación y crianza de animales, se seleccionó las especies de mayor capacidad de acumular grasa (anteriormente consumían animales salvajes); se cambió el consumo de carbohidratos complejos a mayor disponibilidad de azúcares de metabolización rápida y refinados, aumentó la sal en la dieta y el hábito de ingerir leche de otros animales, ocasionando un cambio revolucionario en la dieta y en la historia de las enfermedades humanas. Se calcula que decenas de enfermedades se incorporaron a las patologías frecuentes con esta modificación dietética.

Además, en los últimos dos siglos la emigración de la población rural ha sido masiva hacia las ciudades. Grandes sectores de la población abandonaron progresivamente la actividad laboral que requería esfuerzo físico y al disponer de más recursos alimentarios, ha producido un estallido global de obesidad, ligado a una acentuación de la RI por disminución de la masa muscular y abundancia en la disponibilidad de alimentos para grandes segmentos de la población [Tajer, 2010].

En la **hipótesis de la discordancia evolutiva** [Eaton & Konner, 1985], los cambios de la nutrición y patrones de actividad respecto a nuestros antepasados cazadores-recolectores han contribuido a las enfermedades crónicas endémicas de la civilización moderna. Ha sido revisada posteriormente [Konner & Eaton, 2010], y con la evidencia antropológica, mantiene la tesis inicial: la dieta humana ancestral (nutrientes con menos carbohidratos refinados y sodio, más fibra y proteína y similar colesterol y grasa (principalmente grasa no saturada), más ejercicio físico con más rendimiento energético, etc.) ha sido prevalente durante nuestra evolución. Estudios epidemiológicos, clínicos y de laboratorio, apoyando aspectos de ese modelo, se han planteado dudas acerca de la necesidad de niveles muy bajos de la ingesta de proteínas, grasas y colesterol común en las recomendaciones dietéticas oficiales.

5.6 MEDICINA EVOLUTIVA Y NUTRICIÓN

Una perspectiva evolutiva, se ha aplicado con cierto éxito en el área médica de la nutrición, como ya venimos refiriendo.

Las dietas de la mayoría de pueblos en las naciones industrializadas difieren de las de nuestros ancestros. En los 5-7 millones de años de evolución homínida los alimentos disponibles consumidos modelaron los requerimientos nutricionales. En los pasados 10.000 años, al introducirse alimentos nuevos (domesticación de animales) y plantas (aparición de la agricultura) la dieta y comportamientos humanos, han sufrido cambios positivos y otros no siempre beneficiosos para la salud. El incremento actual de enfermedades y desórdenes (DT2, aterosclerosis, hipertensión arterial, etc.), radicaría quizá en que en nuestro evolucionado cuerpo hay discordancia entre la energía ingerida (alimentos) y la consumida en la vida diaria actual [Eaton & Konner 1985]. Investigaciones arqueológicas, analizan las

dietas ancestrales que se supone existían, evaluando diferencias con la actual en el aporte calórico de grasas, proteínas, carbohidratos, sodio, calcio, ácido ascórbico (vitamina C) y colesterol.

Las plantas, básicas en las dietas humanas, se concentran ahora en las gramíneas, que consumimos más que nuestros ancestros; hay pueblos que se mantienen por la producción y consumo de grano de cereales. Alimentos actuales basados en cereales son procesados y refinados, reemplazando carbohidratos complejos (dieta de nuestros ancestros) por azúcares refinados (dieta actual), deteriorando la salud de muchos individuos. Las dietas con exceso de cereales carecen de vitaminas importantes (A, C), minerales (calcio), aminoácidos (lisina, metionina) y ácidos grasos (linoleico) pero incluyen antinutrientes (inhibidores de la α -amilasa y proteasa) que interfieren con la absorción de otros nutrientes. Patologías crónicas (esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad celiaca por intolerancia al gluten y DT1) pueden deberse a su consumo excesivo. Las fuentes de alimento de origen animal (incluso insectos), han existido durante miles de generaciones.

Actualmente, los productos animales que se consumen son más ricos en grasas (animales domesticados) que antes (animales salvajes), causando consecuencias negativas en la salud (mayor incidencia de obesidad, cardiopatía y cáncer). Nuestras dietas son diferentes en calidad y cantidad de las de nuestros ancestros. La discordancia entre las necesidades nutricionales humanas evolucionadas y la dieta actual resulta perjudicial, repercutiendo esta idea en los consumidores occidentales que luchan para controlar su peso, presión arterial elevada y diabetes con dieta y ejercicio. Diversos autores argumentan que adoptando algunos aspectos de las dietas ancestrales (menos grasa, carbohidratos más complejos, menos sal, comidas pequeñas frecuentes) y otros estilos de vida (más ejercicio, menos alcohol, no fumar, menos estrés), nos sentiremos mejor, viviremos más y perderemos peso. Una aproximación a incorporar una perspectiva evolutiva en el manejo de la dieta y estilo de vida simplificarían en gran parte el problema.

5.7 SEDENTARISMO

En biología, una regla universal sostiene que, obtener alimentos para la subsistencia (**aporte de energía**), *requiere realizar un esfuerzo físico proporcional (gasto de energía) para lograrlo*; rige en todos los animales incluida la especie humana, que, en su evolución, ha mantenido equilibradas (aporte y gasto de energía). Con el desarrollo económico y la industrialización, se ha alterado esta relación. Actualmente, el ser humano habitante en países desarrollados o emergentes que adoptan hábitos de conducta de los primeros, se ha convertido en el único ser capaz de ingerir enormes cantidades de calorías en forma de alimentos de fácil acceso, sin gastar ni una sola caloría muscular para conseguirlas.

De siempre, en todos los estudios, se ha considerado el sedentarismo la condición basal, condición "control" y al ejercicio físico, la condición experimental, "la adaptación". En medicina evolutiva se propone lo inverso. En la especie humana, la condición basal natural sería "la actividad física continua y de cierta intensidad"; el "sedentarismo" sería un proceso carencial, de deficiencia, promotor de enfermedad. Esto, plantea modificar nuestra forma de pensar y enfocar la enfermedad. Por ejemplo, la hipertrofia cardíaca fisiológica que, con entrenamiento deportivo, logra mejoras

cardiocirculatorias parece deberse a una influencia genética o a la plasticidad del tejido miocárdico y al influjo de un entorno cambiante y dinámico. Nuestros antepasados paleolíticos, con intensa actividad para poder sobrevivir, debieron presentar hipertrofia ventricular izquierda fisiológica y elevadas reservas cardíacas. Se ha propuesto que el corazón "control", sería el fenotipo físicamente activo (el corazón del hombre paleolítico) y el no hipertrofiado, una falta de acondicionamiento cardíaco por el sedentarismo.

Según la medicina evolutiva, las células humanas no están adaptadas a la vida inactiva. La evolución, durante siglos, ha favorecido determinados genes que proporcionan un fenotipo que permite una gran flexibilidad en los flujos metabólicos y una contracción muscular eficaz, aun en las peores condiciones nutricionales. Quizá los humanos precisemos superar cierto umbral de actividad física para mantener el normal funcionamiento de nuestros sistemas homeostáticos. La inactividad física durante periodos crónicos, impediría la expresión de determinados genes y apagaría algunos elementos del balance homeostático de la energía, ocasionando inicialmente una disfunción fisiológica y a la larga, la enfermedad.

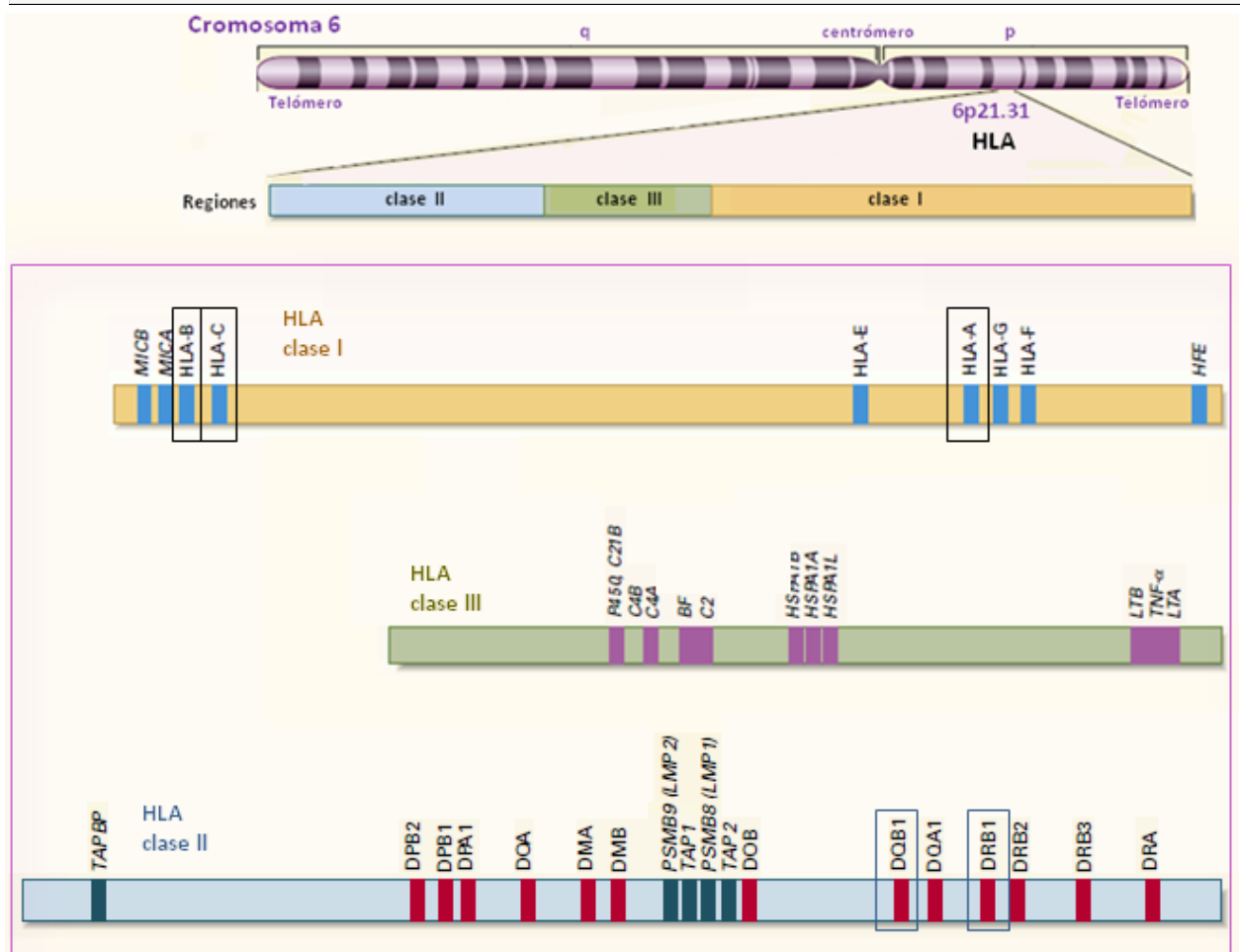
El sedentarismo actual y los alimentos hipercalóricos, de ingesta fácil y constante, distorsionan las interacciones de los genes ahorradores y el entorno. Predispone a que el genoma paleolítico (que actualmente portamos) exprese mal sus genes en diversos órganos y tejidos y origine las enfermedades de la opulencia (hipertensión, arteriosclerosis, diabetes, obesidad y dislipemia) [Campillo Álvarez JE, 2006].

6. EL SISTEMA HLA

6.1 CONCEPTO

El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) (*MHC, Major Histocompatibility Complex*) del ser humano o complejo de antígenos leucocitarios humanos (*HLA, Human Leukocyte Antigen*), es **una región genética** denominada **región HLA** de 4 megabases (Mb) en el **cromosoma 6 (6p21.3)** (Fig.10). Alberga muchos genes codificantes expresados muy polimórficos, cuyos productos o proteínas codificadas —‘moléculas’ o ‘antígenos’— se expresan en la superficie de diversas células. Los más conocidos son: los de clase I y II, cuyos productos (proteínas) son esenciales para la especificidad inmunitaria y la histocompatibilidad de los trasplantes, desempeñando una función importante en la predisposición a diversas enfermedades autoinmunitarias. Diferencias en esta región genética entre un donante y su receptor, suponen una importante barrera al éxito de trasplantes e injertos. Desde su descubrimiento (en animales) se conoció su efecto sobre los trasplantes pero su función biológica sólo al final de la década de los 70 (s. XX). Los linfocitos T son incapaces de reconocer a sus antígenos específicos cuando se encuentran en solución como moléculas íntegras sino que reconocen fragmentos de éstos asociados a las moléculas codificadas por el CMH. Otros, también son fundamentales para el funcionamiento del sistema inmunitario innato y específico de antígeno.

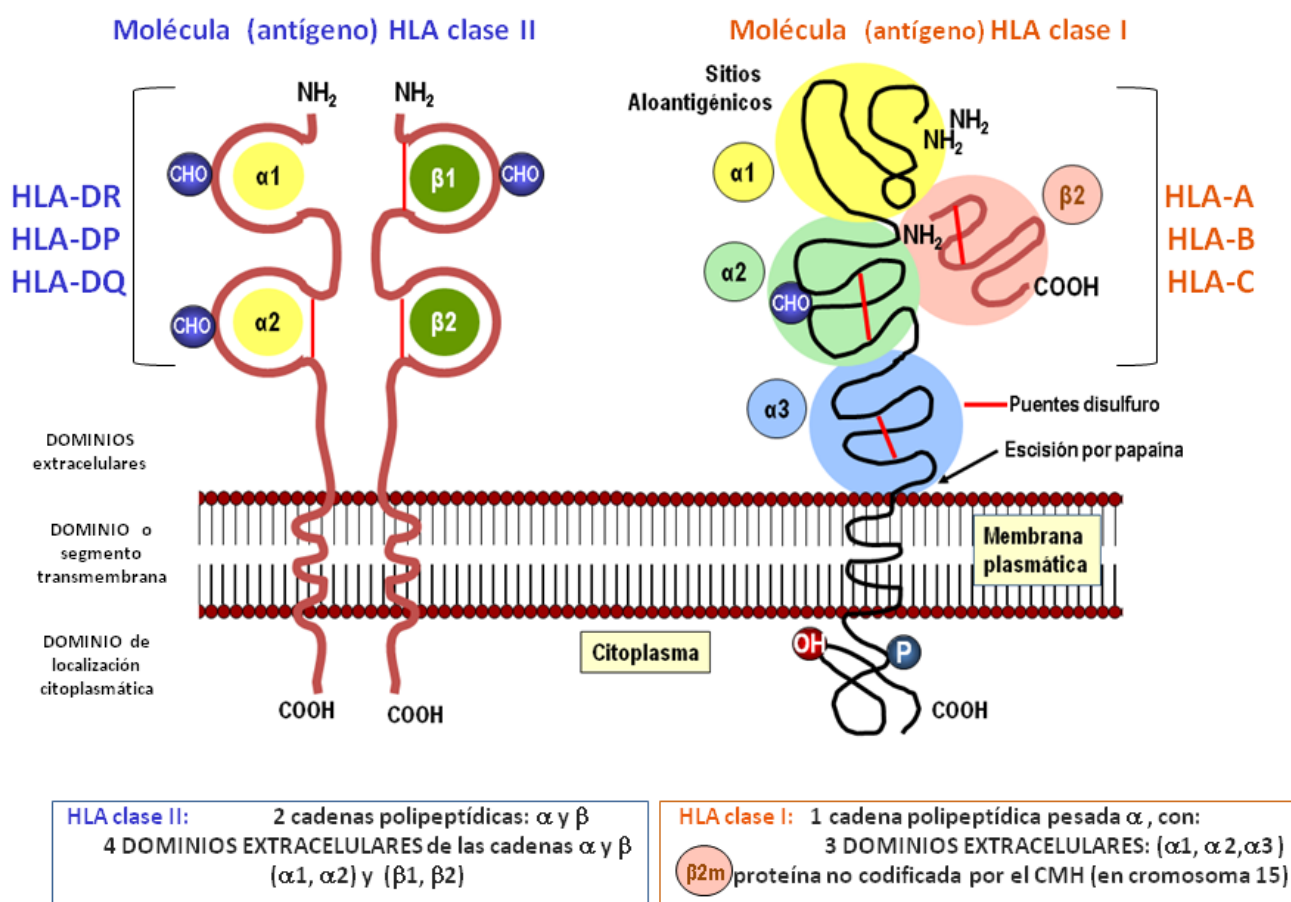
Fig. 10. Cromosoma 6 y SISTEMA HLA EN HUMANOS (6p21.31) (De Klein et al., 2000, adaptada)



Los **genes de la región HLA clase I** se localizan en un segmento del ADN de 2 Mb en el telómero *p* de la región HLA (Fig. 10). Los **loci clásicos** (MHC clase Ia) **HLA-A, HLA-B y HLA-C**, cuyos **productos** participan de forma integral en la respuesta inmunitaria frente a las infecciones intracelulares, los tumores y los aloinjertos, **se expresan en todas las células nucleadas** y son muy polimorfos en la población [Harrison, 2013].

En los genes HLA-clase I, cada alelo de estos loci codifica una cadena pesada (cadena α) que se asocia mediante un enlace no covalente a la cadena ligera no polimorfa β_2 microglobulina codificada en un lugar alejado del sistema HLA: el cromosoma 15 (Fig. 11).

Fig. 11. MOLÉCULAS HLA



6.2 ESTRUCTURA DE LAS MOLÉCULAS DEL CMH

Los genes de MHC clases I y II codifican las moléculas de MHC que se unen a péptidos pequeños. demuestran la estructura de dominio de las moléculas del MHC clase I y clase II. Los dominios α_1 y α_2 de clase I y los dominios α_1 y β_1 de clase II forman una plataforma de lámina β que constituye el piso del surco fijador de péptido, y las hélices α forman las partes laterales del surco. Los dominios α_3 y β_2 se proyectan desde la superficie celular y forman los sitios de contacto para CD8 y CD4, respectivamente. Contienen las regiones hipervariables responsables del reconocimiento de antígenos [Harrison, 2013].

Las moléculas del sistema HLA se expresan en la superficie de las células nucleadas y tienen una función importante en la respuesta inmune y como antígenos inmunógenos en los trasplantes. Los genes del sistema de histocompatibilidad HLA se encuentran en el brazo corto del cromosoma 6 y clásicamente se dividen en dos familias: las moléculas de clase I (HLA-A, B, C, E, F y G) y las moléculas de clase II (HLA-DR, -DQ y -DP) (Fig. 11).

La función primaria de las moléculas clases I y II es la presentación de antígenos a las células T. Así, los péptidos exógenos que derivan de virus, bacterias, vacunas, etc., y algunos péptidos endógenos (autoantígenos) son procesados inicialmente por enzimas proteolíticas antes de unirse dentro de la célula a las moléculas de clases I y II. Posteriormente, el complejo antígeno-molécula clases I-II emigra a la superficie celular y muestra estos productos a los linfocitos T.

Las moléculas de clase I son el producto de un gen con gran polimorfismo (A, B, C) que codifica una glucoproteína de unos 44.000 D que forma un heterodímero con la β -2-glucoproteína. Estas moléculas de clase I están formadas por varios dominios (Fig. 11). La gran variabilidad en las moléculas de clase I se produce en los dominios α 1 y α 2, de localización extracelular y responsables de la identificación antigénica. Estos dominios forman una especie de lecho al que se unen pequeños péptidos.

Los antígenos HLA de clase II son el producto de dos genes (alfa y beta) cada uno de los cuales codifica una glucoproteína distinta (p. ej., DRA y DRB; DQA y DQB) que forman dímeros. Las moléculas de clase II también ligan pequeños péptidos dentro de la célula que son entonces transportados a la superficie celular.

El **MAPA CLÁSICO del Sistema HLA** está dividido en 3 regiones denominadas región de clase I (HLA-I), región de clase III (HLA-III) y región de clase II (HLA-II), situadas en este orden de telómero a centrómero, en el brazo corto del cromosoma 6 [Horton *et al.*, 2004] (Fig. 10). El **MAPA EXTENDIDO** lo completa al añadir dos nuevas regiones: una en el extremo telomérico (región de clase I extendida) y otra en el extremo centromérico (región de clase II extendida), ampliándose así las dimensiones de la región HLA. Según el mapa extendido, la región HLA contiene 421 genes. La mayor concentración de genes se observa en la región de clase III, que contiene 58 genes funcionales, convirtiéndola además en la región de mayor densidad génica de todo el genoma humano [Horton *et al.*, 2004] (Fig. 10).

Los genes CMH de **clase I y los genes clase II**, codifican la síntesis de dos tipos de moléculas también diferentes, los **antígenos clase I** y los **antígenos clase II**.

Los GENES HLA-I se caracterizan por expresar **proteínas estructuralmente muy similares**, aunque diferentes desde el punto de vista funcional. Según esto, se clasifican en (Fig.10):

genes de clase I clásicos (HLA-**A**, HLA-**B** y HLA-**C**, también denominados HLA-Ia). Son muy polimórficos y expresan proteínas (glucoproteínas) en la membrana de células nucleadas implicadas en el reconocimiento de péptidos antigénicos (antígenos) de origen intracelular (derivados de virus y tumores), que son presentados a los linfocitos T citotóxicos (Tc, CD8+) para poner en marcha una respuesta inmunológica de tipo celular (citotóxica) mediada por linfocitos T citotóxicos (Tc) y células NK (*natural killer*).

genes de clase I no clásicos (HLA-**E**, HLA-**F** y HLA-**G**, también conocidos como HLA-Ib). Su patrón de expresión es mucho más reducido y la función exacta de sus productos proteicos no está muy clara. Su polimorfismo es mucho menor y podrían estar relacionados con fenómenos de tolerancia inmunológica.

genes tipo HLA-I (MIC-A y MIC-B). Expresan proteínas que son reconocidas por los receptores activadores NKG2D de las células NK y que pueden tener una función inmunológica asociada a la mucosa intestinal.

gen de la hemocromatosis (HFE). Excepto éste, que se encuentra en el extremo telomérico de la región de clase I extendida, muy alejado del resto, todos están localizados en la región de clase I clásica, en la que también existen 17 pseudogenes. Está implicado en el transporte de hierro.

Los GENES HLA-II se ubican en la región de clase II (la más centromérica) y dan lugar a **proteínas polimórficas** implicadas en la presentación antigénica que se denominan **HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR** (Fig. 10).

En la región HLA, los genes que contiene están muy próximos entre sí (característica fundamental) generando desequilibrios de ligamiento muy acentuados (la recombinación entre ellos es altamente improbable) que provocan la existencia de **haplotipos** (combinaciones de alelos concretos situados en loci contiguos) que se transmiten como unidades genéticas indestructibles a lo largo de muchas generaciones.

Existen 5 proteínas de clase II: **HLA-DM, HLA-DO, HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR**. Las cadenas α están codificadas en **genes** denominados '**A**' (HLA-DMA, HLA-DPA, HLA-DQA, HLA-DRA) y las cadenas β están codificadas en **genes** denominados '**B**' (HLA-DMB, HLA-DPB, HLA-DQB, HLA-DRB). Se han descrito en algunos casos varios genes 'A' y también varios genes 'B' codificantes para la misma proteína de clase II. En concreto hay identificados:

- 3 genes DPA (denominados DPA1, DPA2, DPA3),
- 2 genes DPB (DPB1, DPB2) que codifican cadenas alfa y beta de las proteínas HLA-DP,
- 1 gen DRA y
- 9 genes DRB (DRB1, a DRB9) que codifican cadenas alfa y beta de las proteínas HLA-DR,
- 2 genes DQA (DQA1, DQA2) y
- 3 genes DQB (DQB1, DQB2, DQB3) que codifican cadenas alfa y beta de las proteínas HLA-DQ.

Muchas de esas copias extra no son funcionales. De hecho solo se expresan DPA1, DPB1, **DRB1**, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1, DQA2, **DQB1**, DQB2 y los genes que aparecen en copia única (DMA, DMB, DOA, DOB, DRA) [Horton *et al.*, 2004].

Los productos de la expresión de los genes HLA-DR (cadenas α y β) determinan el GRUPO SEROLÓGICO PRINCIPAL, variable según los alelos HLA-DRB1 presentes en el individuo. Además, algunos individuos presentan otros genes HLA-DRB, que pueden ser funcionales (y expresan cadenas β) o pseudogenes. Las cadenas β de estos otros genes HLA-DRB funcionales pueden formar moléculas de clase II con las cadenas α del gen HLA-DRA, determinando entonces un GRUPO SEROLÓGICO ASOCIADO AL PRINCIPAL.

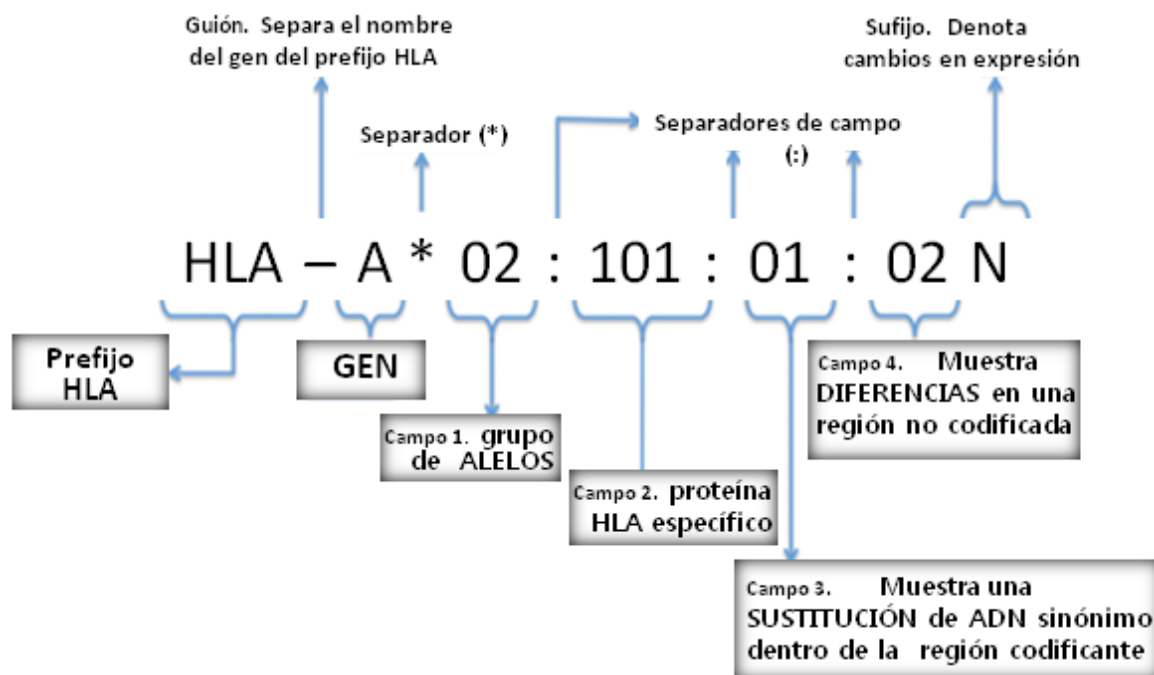
Los dominios $\alpha 1$ y $\beta 1$ en estas proteínas HLA de clase II conforman una valva muy parecida a la de las moléculas HLA de clase I, y también son capaces de unir péptidos de mayor longitud (más de 13 aminoácidos) (Fig. 11). El polimorfismo también se concentra en el sitio de reconocimiento antigénico (ARS) y afecta fundamentalmente a la cadena β (dominio $\beta 1$), ya que la cadena α suele ser monomórfica en la mayoría de estas proteínas. La variabilidad está relacionada con la función presentadora de antígenos que desempeñan estas moléculas, que una vez unido el péptido (que es de origen extracelular, generalmente bacteriano) contactan con el receptor de los linfocitos T cooperadores (TCR-CD4) para activar la respuesta inmune.

6.3 NOMENCLATURA DE LOS GENES HLA

La nomenclatura de los genes del HLA y de sus productos, se adjudicó inicialmente con un sistema basado en el conocimiento de la secuencia del ADN mediante el empleo de técnicas serológicas, utilizando antisueros humanos, ante todo procedentes de mujeres multíparas que durante el embarazo normal producen anticuerpos contra antígenos paternos expresados en las células fetales. Entre los genes de la clase I, se designaron los loci de los alelos del HLA-A, -B y -C. Los alotipos serológicos se denominaron mediante números consecutivos, por ejemplo, HLA-A1, HLA-B8.

Según la nomenclatura actual de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Fig. 12) —con actualizaciones periódicas por paneles de expertos— los alelos de la clase I reciben una única designación que indica el locus, la especificidad serológica y el subtipo basado en la secuencia. Por ejemplo, HLA-A*0201 hace referencia al subtipo 1 del alelo HLA-A2 definido mediante serología. A los subtipos que difieren entre sí en los nucleótidos, pero no en la secuencia de aminoácidos, se les nombra con una cifra más (p. ej., HLA-B*07021 y HLA-B*07022 son dos variantes del HLAB702 subtipo de HLA-B*07). (Nomenclature for Factors of the HLA System) [<http://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html>; Marsh, 2010] (Fig. 12).

Fig. 12. Nomenclatura de los genes HLA, según la OMS (De: <http://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html>)



NOMENCLATURA	Indica
HLA	la REGIÓN HLA y prefijo para un gen HLA
HLA - DRB1	un locus HLA particular, por ej., DRB1: GEN
HLA-DRB1*13	un grupo de alelos que codifican el antígeno DR13 o la secuencia homóloga a otros alelos DRB1*13 : GRUPO ALELO
HLA-DRB1*13:01	un alelo HLA específico: PROTEÍNA HLA ESPECÍFICA
HLA-DRB1*13:01:01:02	un alelo que difiere por una mutación sinónima de DRB1*13:01:01:01 SUSTITUCIÓN de ADN SINÓNIMO DENTRO DE LA REGIÓN CODIFICANTE
HLA-DRB1*13:01:01:01:02	un alelo que contiene mutaciones fuera de la región codificante DRB1*13:01:01:01:01. DIFERENCIAS EN UNA REGIÓN NO CODIFICANTE
HLA-A*24:09 N	un alelo 'Nulo', un alelo que no es expresado
HLA-A*30:14 L	un alelo que codifica una proteína con significativamente reducida (baja) 'LOW' expresión en la superficie celular
HLA-A*24:02:01:02 L	un alelo que codifica una proteína con significativamente reducida (baja) 'LOW' expresión en la superficie celular, donde la mutación se encuentra fuera de la región codificante
HLA-B*44:02:01:02 S	un alelo que codifica una proteína que es expresada como una molécula solamente 'SEGREGADA'
HLA-A*32:11 Q	Un alelo que tiene una mutación que ha sido previamente mostrado que tiene un efecto significativo en la expresión en la superficie celular, pero que no ha sido confirmado y su expresión permanece cuestionable 'QUESTIONABLE'

7. EL SISTEMA HLA EN AMERINDIOS

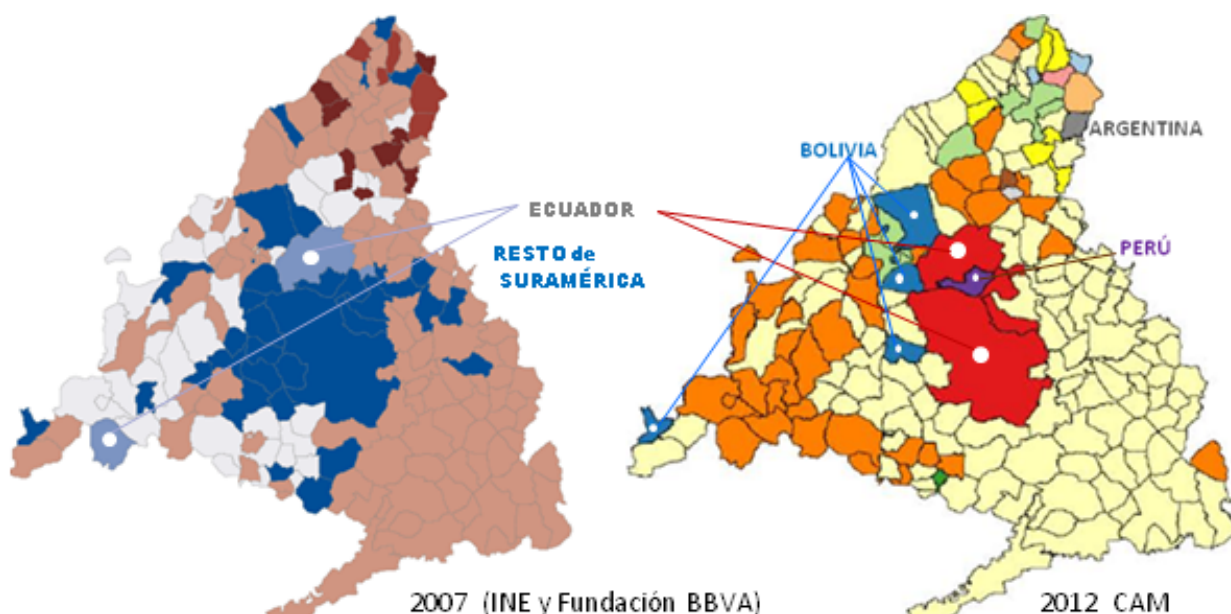
7.1 AMERINDIOS EN LA COMUNIDAD DE MADRID

Los amerindios constituyen un grupo étnico con unas características antropométricas visibles, ubicado fundamentalmente en América Central y del Sur, pero con las diferentes migraciones y la globalización actual, están presentes en muchos países, fundamentalmente en Norteamérica y Europa, y en particular en España por la afinidad del lenguaje.

La inmigración amerindia a España desde Centro y Suramérica ha sido intensa en los últimos años y hacia 2007, momento de la iniciación del estudio, tenía una amplia dispersión geográfica en todo el territorio de la Comunidad de Madrid. Constituía aproximadamente el 10% de su población total, como indican estudios demográficos referidos a la población extranjera total [INE y Fundación BBVA, 2007: http://www.fbbva.es/TLFU/dat/32_p_madrid.pdf] (Fig. 13).

Actualmente, persiste la inmigración amerindia en Madrid, aunque su porcentaje y distribución geográfica se ha modificado por diversas causas, a expensas de otros grupos étnicos, según los datos de la evolución del empadronamiento en la Comunidad de Madrid en Junio del 2012 [madrid.org., 2012] (Fig. 13). En los mapas obtenidos de ambas fuentes, solo se señala la población amerindia y su distinta ubicación comparativa en dos momentos demográficos puntuales. En 2007, los oriundos de Ecuador (en azul claro) y resto de países de Suramérica (azul oscuro) representaban el mayor porcentaje de la población extranjera frente a otros grupos étnicos. En 2012, aun persistiendo, su disminución es notable y su agrupación geográfica se ha modificado parcialmente, reemplazada en su mayoría por individuos del este de Europa y asiáticos, preferentemente (Fig. 13).

Fig. 13. Población extranjera inmigrante en la Comunidad de Madrid (Datos demográficos: (2007, 2012))



La presencia de esta inmigración ha sido y continúa siendo importante en la actividad cotidiana laboral, festiva y en el ocio, incrementando la natalidad global, afincándose muchos de ellos, y solidarizándose con las demandas sociales, como la donación de sangre (Fig. 14).

Fig. 14. Amerindios en Madrid



Amerindios inmigrantes a la Comunidad de Madrid (hombres y mujeres) adultos, no relacionados, se ofrecieron voluntariamente a donar sangre en los puntos de donación habilitados por el Centro de Transfusión en toda la Comunidad. Se les invitó a participar en el estudio, para establecer de forma directa el perímetro de la cintura y determinar la obesidad y factores de riesgo cardiovascular en este grupo étnico. Procedían de países andinos, principalmente Ecuador, Colombia y Perú [Arnaiz-Villena *et al.*, 2012].

Para confirmar el origen amerindio de estos individuos se realizó el genotipado HLA en las muestras obtenidas al efecto. Se utilizó metodología estándar (detallado en Materiales y Métodos) y se obtuvo su perfil HLA. Mostraron un perfil amerindio típico similar al de grupos étnicos amerindios aislados y totalmente diferente de otros habitantes del mundo (incluyendo los españoles). El perfil HLA encontrado en estos amerindios no indica su área específica de origen en América, como era esperado de estudios previos [Arnaiz-Villena *et al.*, 2014]; es decir no se relacionan más con

amerindios andinos que con otros en los dendrogramas Neighbour Joining o análisis de correspondencia [Arnaiz-Villena *et al.*, 2014].

Estos datos, resultantes del estudio del perfil HLA de esta muestra de amerindios en Madrid, constituyen las bases iniciales para establecer estudios de epidemiología y trasplante en colaboración con sus poblaciones originales en América. Asimismo, permitiría establecer una lista de espera virtual de trasplante que puede ser útil para sus trasplantes terapéuticos, particularmente trasplante de médula ósea. Esto debe realizarse con amerindios inmigrados a otras zonas de España y con sus propios países para elaborar programas conjuntos de trasplante. Otros programas de epidemiología específica en enfermedades ligadas al sistema HLA serán también establecidos

Se considera que los amerindios (la mayoría de los indios de América del Norte y del Sur) fueron los primeros habitantes en América (hace 30.000 a 12.000 mil años), antes que los indios que hablaban Na-Dené (atabascos canadienses, navajos, apaches) hace unos 12.000 años y aleutianos y esquimales (hace unos 6.000 años). Inicialmente, podrían haber alcanzado América desde Siberia y otras partes del océano Pacífico (Sur de Asia, Polinesia y Australia). No obstante, poblaron América desde Canadá a Tierra del Fuego (extremo sur de Suramérica) [Parga-Lozano *et al.*, 2011].

En el estudio genético HLA, muestran un perfil con alelos "quasi" específicos, que los hacen diferentes al resto del mundo, habiéndose demostrado que comparten parcialmente características con otras primeras poblaciones nativas de Canadá y América del Norte, isleños de islas del Pacífico y otras poblaciones, muy distantes geográficamente e incluso con lenguas distintas [Arnaiz-Villena *et al.*, 2010; Arnaiz-Villena *et al.*, 2014; Rey *et al.*, 2012]. El hecho de compartir estos hallazgos genéticos objetivados, permite postular que los genes se heredan y las lenguas han sido impuestas a lo largo de la historia o han variado por modas u otros motivos. También, la velocidad de evolución de genes y lenguas es diferente [Rey *et al.*, 2012].

Los amerindios muestran muy pocos alelos estrictamente particulares (*DRB1*04:11*, *DRB1*04:17*), pero presentan los alelos "quasi" específicos como son: *A*02-B*35-DRB1*04:07-DQB1*03:02*, *A*02-B*35-DRB1*08:02-DQB1*04:02* [Arnaiz-Villena *et al.*, 2012].

OBJETIVOS

OBJETIVOS:

EN UNA MUESTRA DE AMERINDIOS ADULTOS INMIGRANTES A MADRID:

- ESTANDARIZAR, POR PRIMERA VEZ, LOS **VALORES DE MEDIDAS DE PERÍMETRO DE CINTURA QUE DEFINEN OBESIDAD EN AMERINDIOS**.
- ASEGURAR, MEDIANTE ESTUDIOS GENÉTICOS HLA, **QUE LA MUESTRA SON AMERINDIOS** TANTO ANTROPOMÉTRICA COMO GENÉTICAMENTE MEDIANTE EL ANÁLISIS DE ALELOS Y HAPLOTIPOS HLA "QUASI" ESPECÍFICOS DE AMERINDIOS.
- DEFINIR EL **PORCENTAJE DE AMERINDIOS OBESOS** DE LA MUESTRA.
- COMPROBAR **SI HAY ASOCIACIÓN DEL ALELO DE RIESGO DE SÍNDROME METABÓLICO/ OBESIDAD PC-1 Gln-121 EN AMERINDIOS CON OBESIDAD Y OTROS PARÁMETROS ALTERADOS EN OBESIDAD / SÍNDROME METABÓLICO (COLESTEROL-HDL, TRIGLICÉRIDOS, HIPERTENSIÓN)**.
- ELABORAR UN **MAPA DE LA DISTRIBUCIÓN MUNDIAL DE LAS FRECUENCIAS DEL ALELO PC-1** (ALELO DE RIESGO DE SÍNDROME METABÓLICO/OBESIDAD).
- RELACIONAR ESTA DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS PC-1 GLN121 CON LAS HISTORIAS POBLACIONALES CORRESPONDIENTES.
- INFERIR **CONCLUSIONES EVOLUTIVAS EN EL MARCO DE LA HIPÓTESIS DE LOS GENES DE OBESIDAD "AHORRADORES" ("THRIFTY" GENES)**.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL. MUESTRA AMERINDIA DE POBLACIÓN ESTUDIADA

Se reclutaron amerindios procedentes de Centro y Suramérica inmigrantes a la Comunidad de Madrid (hombres y mujeres) adultos de 21 a 65 años, entre los individuos voluntarios a donar sangre para el Centro de Transfusión, en las colectas realizadas en Madrid capital y poblaciones de toda la Comunidad, durante el periodo del estudio. Se seleccionaron inicialmente entre los donantes por sus características y parámetros antropométricos visibles y al comprobar su país de procedencia. Se les ofreció participar en el estudio dirigido a este grupo étnico —aprobado por el comité local de Ética— para determinar sus valores de circunferencia de la cintura, validar sus puntos de corte óptimos e identificar mejor a individuos con obesidad y Síndrome Metabólico en los amerindios.

Para ello, cumplimentaron el cuestionario estándar de salud requerido para optar a la donación (Anexo I). En un cuestionario epidemiológico adicional (Anexo II), prestaron también consentimiento informado escrito según los principios de la Declaración de Helsinki II (1964) http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/17c_es.pdf. En éste, se registraron los siguientes datos: país de origen, tiempo de salida de su lugar de nacimiento a España, tensión arterial, medida de la circunferencia de la cintura, talla, peso, su posible ganancia de peso desde su llegada a España (más de 6 meses) y la existencia o no de historia familiar de diabetes dependiente de insulina. Se excluyó a estos últimos. Ninguno estaba emparentado con otro del grupo ni era diabético.

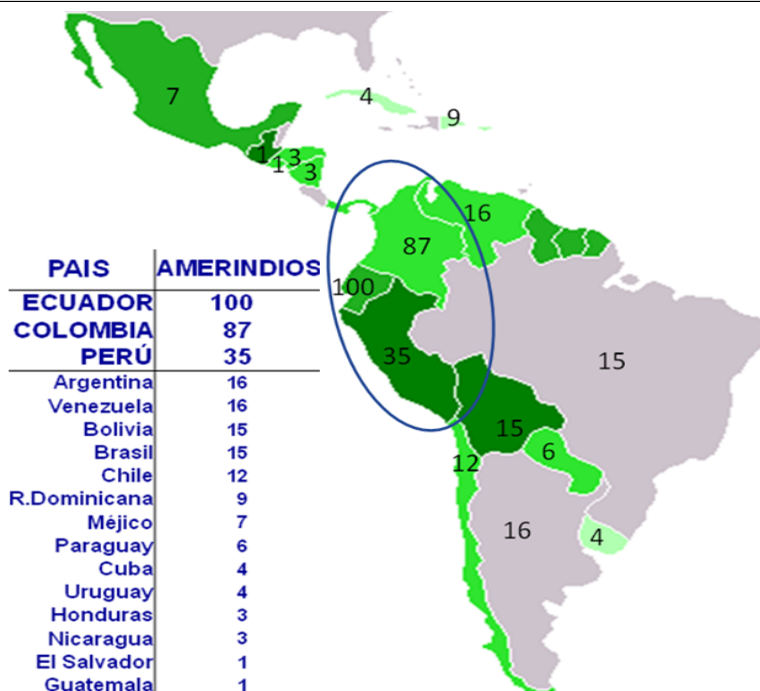
Se descartó a quienes en el análisis posterior efectuado a todos los candidatos no tenían alelos HLA amerindios característicos.

Fig. 15. AMERINDIOS participantes en el estudio y PAÍSES de origen

Por países, los participantes en mayor número eran oriundos de la región andina (x %): Ecuador 100 (29,04%), Colombia 87 (26,04%) y Perú 35 (10,47%).

El resto, procedían de los siguientes países: Argentina 16, Venezuela 16, Bolivia 15, Brasil 15, Chile 12, República Dominicana 9, Méjico 7, Paraguay 6, Cuba 4, Uruguay 4, Honduras 3, Nicaragua 3, El Salvador 1, Guatemala 1 (Fig. 15).

Se excluyó definitivamente a quienes no cumplían todos los requisitos. Se consideró aptos para la



donación —según los parámetros clínicos requeridos en el cuestionario estándar de donación de sangre y el protocolo analítico del Centro de Transfusión que incluye tests hematológicos, bioquímicos y serológicos (hepatitis, sífilis, HIV y enfermedad de Chagas)— a 321 amerindios voluntarios (129 mujeres y 192 hombres) y, por tanto, sanos y adecuados para el estudio.

MÉTODOS

3.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS. PRESIÓN ARTERIAL medida con esfigmomanómetro de brazaletes, **TALLA en cm de altura** medida con cinta métrica estándar y **PESO** obtenido mediante báscula portátil equilibrada.

3.2 MEDIDA DE LA CIRCUNFERENCIA o PERÍMETRO DE LA CINTURA

Se tomó a todos los participantes amerindios medida de la circunferencia de la cintura, solamente en el punto de la cintura, mediante cinta métrica estándar.

Al no disponerse hasta ese momento de datos fidedignos en amerindios del punto de corte de circunferencia de la cintura, marcador de obesidad correspondiente a este grupo étnico, un objetivo prioritario fue definirlo de forma directa en este grupo de población sometida al estudio [Arnaiz-Villena *et al.*, 2011]. Se han determinado por primera vez y empleado como punto de corte unos valores determinados para esta población, como se especifica en el apartado de Resultados.

3.3 MUESTRAS DE SANGRE. ESTUDIOS REALIZADOS

3.3.1 TRAZABILIDAD DE LA MUESTRA

De todos los participantes amerindios aptos para la donación, sus muestras de sangre periférica —adicionales a toda donación, requeridas para los test bioquímicos y serológicos obligatorios, y conservadas a 4°C— se recuperaron para el estudio.

Según el protocolo habitual, para obtener la **trazabilidad total del “proceso DONACIÓN voluntaria de sangre y obtención de HEMODERIVADOS seguros”**, el médico responsable de seleccionar al donante, en el momento de la donación, identificó todos los elementos de la fase inicial: **la DONACIÓN** —[**cuestionario de salud, cuestionario epidemiológico adicional para este estudio**, cada uno de los **tubos** y las 4 bolsas integrantes de la **bolsa cuádruple** estéril de donación utilizadas posteriormente para realizar el proceso de fraccionamiento de la sangre total y obtención de los distintos hemoderivados (concentrado de hematíes, concentrado de plaquetas y plasma)]— adhiriendo el correspondiente **CÓDIGO DE BARRAS IDENTIFICADOR**, adjudicado a cada donante.

Desde Octubre de 2008, el identificador habitual de código de barras se cambió e instauró definitivamente un nuevo identificador integrado por 16 dígitos, en aplicación de la normativa **ISBT 128** de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT, mayo 2008), que ofrece y garantiza una identificación única para cualquier donación realizada en cualquier parte de todo el mundo).

[<http://www.iccbb.org/uploads/16/39/16395c6ea428d8611c101508c398c5d7/IN-026-An-Introduction-to-ISBT-128-Spanish-v1.pdf>]. (Fig. 16).

Fig. 16. **NORMATIVA ISBT 128. IDENTIFICADOR Universal de donación y el propio del CT CM**

En el **IDENTIFICADOR ISBT**, los 5 primeros dígitos identifican PAÍS (A) y Centro de Transfusión específico 9999. El de la Comunidad de Madrid es E0016 (ESPAÑA E, Madrid 0016); los 2 siguientes: AÑO (2007, será 07, etc.), los 6 siguientes: la secuencia numérica de donación fijada por el LUGAR DE COLECTA. Estos primeros 13 caracteres son el **Número de Identificación de la Donación (NID)**. Siguen 2 dígitos impresos verticalmente (caracteres "flag" o señalizadores). Al final del identificador, hay un carácter adicional encerrado en un cuadro, mayúscula o número (carácter de control).

La extracción de las muestras de sangre periférica y la donación se realizó como es habitual con **una única punción venosa**. La aguja de venopunción es un accesorio más de la bolsa múltiple de donación, que es un sistema estéril cerrado (Fig. 17). Tras la punción, al comenzar a fluir la sangre en su tubular y el de la bolsa, el enfermero/a que controla la donación, en el tubular accesorio terminado en una campana ("puerto") provista de sistema de vacío tipo Venoject®, introduce y llena sucesivamente los tubos requeridos de 10 ml, algunos con anticoagulante EDTA-Na⁺ en su interior. Una vez llenos, clampa este tubular y continúa la donación (Fig. 17).

Fig. 17. **MODO DE EXTRACCIÓN de las muestras a donantes amerindios. TRAZABILIDAD del proceso**

Al llegar al Centro de Transfusión los cuestionarios de salud y epidemiológico, la hemodonación y los tubos test, se supervisaron en los respectivos departamentos e incluyeron en la base de datos con el programa informático específico del Centro.

Los cuestionarios epidemiológicos y tubos destinados al estudio se recuperaron e incluyeron en una base de datos propia, utilizando el mismo código identificador, manteniendo el anonimato del donante amerindio. Las muestras de sangre se centrifugaron quedando el plasma sobrenadante y la capa de células blancas en la parte superior del tubo y el paquete de hematíes en la inferior. Se tomaron 2 ml plasma para cuantificar colesterol, colesterol-HDL y triglicéridos.

Posteriormente, se mezcló cada muestra de sangre con volúmenes iguales (7,5 ml) de sangre anticoagulada con EDTA-Na⁺ y solución conservante (SC) en tubos de polipropileno de 15 ml, que se identificaron de forma apropiada. La solución conservante impide la degradación del ADN genómico y lo mantiene en condiciones óptimas hasta su extracción. Se almacenaron en arcón congelador a -20°C hasta el momento de llevar a cabo la extracción del ADN por la metodología estándar. El resto de plasma, las células rojas y las células blancas sobrantes se congelaron y guardaron para un posible uso ulterior.

La capa de células blancas se utilizó para el análisis del gen PC-1 y los genes HLA específicos de amerindios.

3.3.2 PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN PLASMA

Se cuantificaron los siguientes lípidos: triglicéridos, colesterol total y colesterol-HDL. Éste, se determinó mediante metodología enzimática colorimétrica, después de bloquear con anticuerpos monoclonales las otras fracciones del colesterol sérico. Los análisis se realizaron con metodología automatizada (*AU5430, Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA*).

3.3.3 ESTUDIO GENOTÍPICO DEL GEN PC-1, en el DNA genómico extraído de los leucocitos.

- Consistente en la investigación del polimorfismo del
- Gen PC-1
 - Alelos del gen PC-1 (PC-1 Lys121). Investigación de alelo variante: PC-1 Gln121.

3.3.3.1 EXTRACCIÓN de ADN genómico de los leucocitos

La extracción de ADN a partir de las células blancas separadas de la sangre total se efectuó mediante un extractor automático de ADN (Nucleic Acid Isolation System. QuickGene-810, Fujifilm, LifeScience; Tokio) y un kit específico para este proceso (QuickGene DNA whole blood kit S. Fujifilm, LifeScience; Tokio).

Una vez recibidas las muestras al laboratorio específico, se mantuvieron en un arcón congelador a -20°C hasta proceder a extraer el ADN. La extracción se realizó de forma manual, mediante el

método de extracción de fenol/cloroformo/alcohol isoamílico (FCA) [Sambrock *et al.*, 1989]. El protocolo empleado se describe a continuación [Moscoso del Prado J, 2006].

PROTOCOLO

PASO PREVIO: La descongelación de las muestras se precisa realizar en dos pasos sucesivos para evitar la degradación del ADN debida al cambio brusco de temperatura. La primera descongelación es a 4°C y la segunda a temperatura ambiente.

1. Incubación a 37°C durante 12-16 horas y en agitación (250 rpm) de la siguiente mezcla:
 - 15 ml de sangre periférica con solución conservante.
 - 15 ml de reactivo de lisis (Applied Biosystems, CA, EEUU)
 - 1 ml de proteinasa K (200 µg/ml), (Applied Biosystems, CA, EEUU)
2. Se añade un volumen de FCA (Applied Biosystems, CA, EEUU), se incuba 10 minutos a 37°C en agitación y posteriormente se centrifuga durante 10 minutos a 2.500 rpm a temperatura ambiente.
3. Se recoge el sobrenadante (fase superior) en un tubo nuevo y se repite el paso 2.
4. Se recoge el sobrenadante (fase superior) en un tubo nuevo y se añade un volumen de cloroformo (Applied Biosystems, CA, EEUU), se deja 10 minutos a 37°C en agitación y después se centrifuga 10 minutos a 2.500 rpm a temperatura ambiente.
5. Se recoge el sobrenadante (fase superior) en un tubo nuevo y se añade dos volúmenes de isopropanol y se agita suavemente hasta obtener la precipitación del ADN formando una "medusa". En caso de no observar la medusa, centrifugamos el tubo, eliminamos el sobrenadante y dispensamos el resto en un nuevo tubo de 1,5 ml.
6. Se lava dos veces con etanol al 70% (-20°C) para eliminar posibles impurezas.
7. Se elimina totalmente el etanol del tubo y se deja secar el tubo que contiene el ADN pues el etanol puede inhibir la acción de la polimerasa en la futura amplificación del ADN.
8. Se resuspende el ADN extraído en 250 µl de agua bidestilada y a continuación se conserva a -20°C.
9. Se calcula la concentración del ADN disolviendo una alícuota de 3 µl de ADN en 297 µl de agua bidestilada (dilución 1/100). Se mide la absorbancia de esta muestra a 260 y a 280 nm y se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración del ADN} = \text{Factor de dilución} \times 50 \times A_{260}$$

La relación A260/A280 nos indicará la pureza del ADN que deberá comprender un valor superior de 1,6.

Una vez aislado y medido el ADN, se procede a alicuotar una cantidad a 200 ng/µl para llevar a cabo el tipaje de las muestras y el resto del ADN se conservará en arcón congelador a -40°C.

3.3.3.2 AMPLIFICACIÓN de ADN (del exón 4 del gen PC-1). Técnica de PCR

El ADN resultante de esta extracción se amplifica a continuación mediante la técnica diagnóstica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (del inglés *Polymerase Chain Reaction*). Reproduce la replicación natural del ácido desoxirribonucleico (ADN). Con ella, las cadenas de ADN pueden copiarse y amplificarse exponencialmente, de manera que, cualquier enfermedad presente en el material genético pueda ser más fácilmente detectada. Permite obtener un número elevado de copias a partir de un fragmento de ácidos nucleicos que se pretende estudiar.

El proceso se efectúa en un termociclador (Mastercycler ep gradient S. Eppendorf, Hamburg), donde se fijan las condiciones de temperatura y duración del proceso específicas para el gen PC-1. Los *primers* específicos o cebadores para la amplificación de la parte del exón 4 del gen PC-1 que nos permite detectar el polimorfismo en el codón 121 son los oligonucleótidos: **Primer directo** (Fw): 5'-CTGTGTTCACTTTGGACATGTTG -3' y **Primer inverso** (Fw): 5'- GACGTTGGAAGATACCAGGTTG -3' (Fig. 18).

Técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

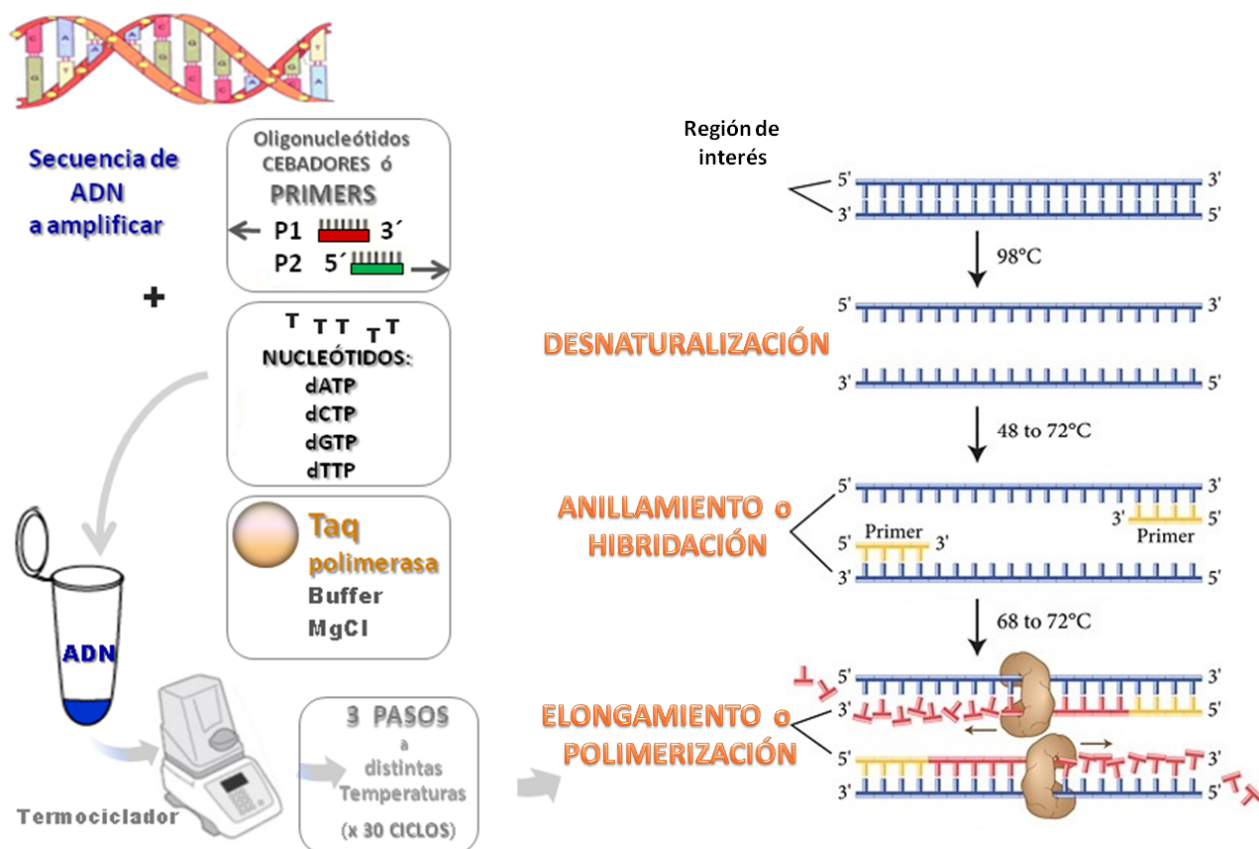
Partiendo de una muestra con un sustrato ADN de cualquier origen, la PCR consiste en **la REPETICIÓN CÍCLICA DE TRES ETAPAS** en el siguiente orden (Fig. 19):

DESNATURALIZACIÓN. Es **la separación de cada una de las dos hebras del ADN sustrato**. Se consigue incubando la muestra a altas temperaturas (93°C-97°C). Las dos cadenas permanecen separadas libres en la solución hasta que la temperatura baje lo suficiente (37°C-65°C) para permitir la renaturalización.

ANILLAMIENTO O HIBRIDACIÓN. Es **la unión (hibridación) de los cebadores a secuencias homólogas en el ADN sustrato que se quiere estudiar**. Los cebadores son oligonucleótidos sintéticos que complementan específicamente a ciertas zonas del ADN sustrato preparado. Para que ocurra esta unión, se requiere que haya una alta concentración de los cebadores y un descenso de la temperatura. Para amplificar una región de ADN "diana", se necesita un par de cebadores, uno de ellos complementario a una de las cadenas y el otro a la cadena antiparalela, en zonas que flanqueen el segmento ADN a amplificar. Los cebadores están definidos por la secuencia del ADN sustrato, compuesto en la mayoría de los casos por 18-28 nucleótidos y es necesario que sus secuencias no sean complementarias entre sí.

ELONGACIÓN O POLIMERIZACIÓN. Es **la extensión en sentido 5'→ 3' del complejo cebador-sustrato**. Como enzima se utiliza la ADN polimerasa que termina de enlazar los iniciadores a la banda de ADN —incorpora los desoxinucleótidos monofosfato, a partir de los trifosfatos (dNTPs) presentes en la solución— y completa la formación de una nueva molécula doble de ADN, obteniéndose la duplicación del número de moléculas del ADN en la muestra a estudiar. Se utilizó la enzima Taq-polimerasa (extraída de la bacteria *Thermus aquaticus*) [Saiki et al., 1985] (Fig. 18).

Fig. 18. CADENA de ADN. EXTRACCIÓN: TÉCNICA PCR



3.3.3.3 ELECTROFORESIS ESPECÍFICA de los alelos de PC-1

Las múltiples copias de ADN de PC-1 resultantes de la amplificación se someten a electroforesis específica en gel de agarosa, donde el tamaño del producto de la amplificación (353 pb) se confirma con un marcador de peso molecular (*Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany*):

CONFIRMACIÓN de los productos PCR. En un gel de agarosa específico (Agarosa al 2% + tampón Bromuro de Etidio 1x) se incluyen 20 ó 30 μl de la muestra de ADN diluida en buffer de carga y con un Patrón de peso molecular a 100 voltios, durante unos 30-40 minutos. Se tiñe con Bromuro de Etidio durante unos 30 minutos y se deja secar. Se observa el gel bajo luz ultravioleta en un transiluminador, apreciándose la banda correspondiente al gen PC-1. Se corta la banda del tamaño de PC-1 (353 Kb) que se corresponde con la amplificación del gen de PC-1, comparado con el marcador de peso molecular de la primera "calle".

3.3.3.4 PURIFICACIÓN de los alelos de PC-1

La banda cortada tras la electroforesis contiene el ADN amplificado de PC-1 inmerso en un bloque de gel. Para la eliminación de éste, se procede a la purificación de la muestra mediante un kit de columnas de extracción-elución (MiniElute Gel Extraction Kit (250). QUIAGEN, Hilden).

3.3.3.5 SECUENCIACIÓN

Después de recortada y purificada la banda del fragmento de ADN PC-1, es analizada en un secuenciador automático (ABI PRISM 3700/ ABI PRISM 3730. Applied Biosystems; California) y se asignan a cada individuo los genotipos de PC-1: AA (Lys121Lys), CA (Gln121Lys) o CC (Gln121Gln).

3.3.3.6 DETERMINACIÓN DEL POLIMORFISMO PC-1

Los resultados del análisis de secuenciación de DNA se leyeron con la ayuda de los programas Chromas 2.31 y Mega 3.1 con los que se pueden determinar los **ALELOS de PC-1**:

ALELO Lys (Número de acceso del GenBank **AF067178**). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF067178>
 – AACATATATGGACTTGCAACAAATTCAGGTGTGGTGAGAAAAGGTTGACCAGAAGCCTCTGTG
 CCTGTTCAGATGACTGCAAGGAC**AAG**GGCGACTGCTGCATCAACTACAGTTCTGTGTGTCAAN

ALELO Gln (Número de acceso del GenBank **AF067177**). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF067177>
 – AACATATATGGACTTGCAACAAATTCAGGTGTGGTGAGAAAAGGTTGACCAGAAGCCTCTGTG
 CCTGTTCAGATGACTGCAAGGAC**AG**GGCGACTGCTGCATCAACTACAGTTCTGTGTGTCAAN

Y del mismo modo, determinar los **GENOTIPOS PC-1 DE CADA INDIVIDUO**:

Genotipo Lys121Lys, Genotipo Lys121**Gln** y Genotipo **Gln121Gln**.

Genotipo Lys121Lys (AA)

– AACATATATGGACTTGCAACAAATTCAGGTGTGGTGAGAAAAGGTTGACCAGAAGCCTCTGTG
 CCTGTTCAGATGACTGCAAGGAC**AAG**GGCGACTGCTGCATCAACTACAGTTCTGTGTGTCAAN
 – AACATATATGGACTTGCAACAAATTCAGGTGTGGTGAGAAAAGGTTGACCAGAAGCCTCTGTG
 CCTGTTCAGATGACTGCAAGGAC**AAG**GGCGACTGCTGCATCAACTACAGTTCTGTGTGTCAAN

Genotipo Lys121Gln (CA)

– AACATATATGGACTTGCAACAAATTCAGGTGTGGTGAGAAAAGGTTGACCAGAAGCCTCTGTG
 CCTGTTCAGATGACTGCAAGGAC**AAG**GGCGACTGCTGCATCAACTACAGTTCTGTGTGTCAAN
 – AACATATATGGACTTGCAACAAATTCAGGTGTGGTGAGAAAAGGTTGACCAGAAGCCTCTGTG
 CCTGTTCAGATGACTGCAAGGAC**AG**GGCGACTGCTGCATCAACTACAGTTCTGTGTGTCAAN

Genotipo Gln121Gln (CC)

– AACATATATGGACTTGCAACAAATTCAGGTGTGGTGAGAAAAGGTTGACCAGAAGCCTCTGTG
 CCTGTTCAGATGACTGCAAGGAC**AG**GGCGACTGCTGCATCAACTACAGTTCTGTGTGTCAAN
 – AACATATATGGACTTGCAACAAATTCAGGTGTGGTGAGAAAAGGTTGACCAGAAGCCTCTGTG
 CCTGTTCAGATGACTGCAAGGAC**AG**GGCGACTGCTGCATCAACTACAGTTCTGTGTGTCAAN

El alelo de PC-1 NO asociado a obesidad en caucasoides es el ALELO Lys121 (AF067178) mientras que el alelo de PC-1 asociado a obesidad, es el ALELO Gln121 (AF067177) [Pizzutti et al., 1999].

3.4 DETECCIÓN DE ALELOS HLA

3.4.1 GENOTIPADO HLA

Se realizó la tipificación genérica o de baja resolución de los genes HLA clase I (A y B) y la de alta resolución para HLA clase II para identificar alelos individuales DRB1 y DQB1 mediante la técnica de citometría de flujo de fase sólida PCR-SSOPLuminex [Itoh Y *et al.*, 2005] (SSOP = Sequence Specific Oligonucleotide Probs). Utiliza la unión a una microesfera rodeada de antígenos HLA purificados a partir de células de múltiples individuos. La reacción se pone de manifiesto con un anticuerpo secundario marcado con fluorocromos y medido por citometría de flujo, por lo que no se detectan anticuerpos dirigidos contra antígenos no HLA.

Esta metodología consiste en:

- (a) **PCR:** (reacción en cadena de la polimerasa) utilizando pares de primers o cebadores específicos proporcionados por los fabricantes (Luminex Corporation, Austin, TX, USA). Todos estos primers son 5'-biotinados y son específicos para determinadas secuencias de los exones 2 y 3 (o solamente el exón 2 para la clase II HLA) o genes HLA.
- (b) **HIBRIDACIÓN:** Los productos de PCR marcados con biotina fueron desnaturalizados por calor a 97°C y posteriormente fueron capaces de hibridar a sondas ADN complementarias asociadas a microesferas y
- (c) **ASIGNACIÓN DE LOS ALELOS HLA:** El complejo resultante de la hibridación fue introducido en la plataforma *Luminex*®; el sistema identifica la intensidad de fluorescencia de los fluoróforos en cada oligoesfera que ha hibridado con el producto PCR marcado con biotina. El software de *Luminex*® asigna los alelos HLA para cada muestra de ADN [Itoh Y *et al.*, 2005]. La secuenciación automatizada de ADN HLA-A, -B, -DRB1 y alelos DBQ1 (ABI PRISM 3700/ABI PRISM 3730. Applied Biosystems; California) fue realizada solamente cuando los resultados del tipado ADN producido fueron ambiguos [Arnaiz-Villena *et al.*, 1992].

Para definir genéticamente a esta población se han utilizado los datos de tipaje HLA obtenidos en un estudio realizado previamente por el grupo de Arnaiz-Villena [Parga-Lozano C *et al.*, 2011]. Se determinaron los genes HLA para aseverar más objetivamente el origen amerindio de los participantes y no sólo sugerido por sus rasgos antropométricos. Los amerindios de nuestra muestra mostraron un perfil HLA similar al de grupos étnicos amerindios aislados. Estos parámetros genéticos, están basados en genes HLA "quasi" específicos de los amerindios, que en estos grupos étnicos son muy diferentes del resto del mundo, incluyendo los españoles [Arnaiz-Villena *et al.*, 2010; Arnaiz-Villena *et al.*, 2014].

Además, permite sentar las bases para estudios epidemiológicos y una lista de espera virtual de trasplante en colaboración con sus poblaciones originarias en América [Parga-Lozano *et al.*, 2011].

En este último trabajo [Arnaiz-Villena *et al.*, 2014], se recogen asimismo datos de grupos étnicos de las islas del Pacífico y habitantes primitivos de América para investigar los alelos HLA. Al ser éste el

sistema genético humano más polimórfico, contabilizando 9.438 alelos, resulta el más útil para comparar la relación entre poblaciones. Se realizó un estudio genealógico y un estudio de comparación de frecuencias, utilizando alelos HLA "quasi" específicos amerindios son: *A*02-B*35-DRB1*04:07-DQB1*03:02*, *A*02-B*35-DRB1*08:02-DQB1*04:02* [Arnaiz-Villena et al., 2012].

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.5.1 EVALUACIÓN DE PROCEDIMIENTOS DIAGNÓSTICOS

En el diagnóstico clínico de los pacientes, *las pruebas diagnósticas* son procedimientos aplicados para detectar una "condición" médica determinada en un individuo (enfermedad, síndrome o proceso patológico). *Para valorar una prueba diagnóstica*, su indicador principal es *la precisión*, pero también su *utilidad* (el valor práctico de la información que obtendremos al aplicarla). Una prueba puede tener una gran capacidad para discriminar, pero poco valor práctico para la atención a los pacientes, por su costo y carácter invasivo, entre otros aspectos.

El resultado de un test diagnóstico o marcador, puede ser: **Binario**: cuando solo existen dos posibles resultados, Positivo P, y negativo N (por ejemplo test de embarazo); **Ordinal**: Si el resultado puede tomar distintos valores ordenados siguiendo una escala establecida (por ejemplo: leve, moderado, grave); **Continuo**: Si el resultado puede ser cualquier valor dentro de un intervalo real especificado (por ejemplo: glicemia, colesterol, hemoglobina).

La "precisión" de un procedimiento diagnóstico ha sido definida como su habilidad para discriminar entre 2 subclases de sujetos cuando hay alguna razón clínica relevante para hacerlo. Puede ser medida en términos de sensibilidad y especificidad. Estas son definidas como: la proporción de sujetos con enfermedad (Sensibilidad) y la proporción de sujetos sin enfermedad (Especificidad), correctamente clasificados por la prueba.

Un procedimiento diagnóstico tiene no solo uno, sino muchos valores de sensibilidad y especificidad. El "umbral de decisión" usado para clasificar a los sujetos como positivos o negativos varía a través del rango de resultados posibles, por tanto, la sensibilidad y la especificidad se moverán en direcciones opuestas: cuando una aumenta, la otra disminuye. Para cada umbral de decisión hay una combinación de sensibilidad y especificidad. *En consecuencia*, solo el rango completo de los pares sensibilidad/especificidad proporciona un cuadro íntegro de la precisión de la prueba.

La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos han sido usados como indicadores de la precisión de una prueba diagnóstica, pero tienen limitaciones, superadas por métodos modernos, como las curvas de operación característica receptor (Receiver Operating Characteristic o (ROC) también denominada "Performance Characteristic Curves" o curvas de rendimiento diagnóstico. Estas, proporcionan un buen índice de la capacidad de una prueba diagnóstica para discriminar entre estados alternativos de salud cuando los resultados son medidos en escala ordinal, por intervalo o continua. Son útiles también para comparar distintos procedimientos diagnósticos y seleccionar umbrales de decisión (puntos de corte entre los resultados positivos y negativos de la prueba).

3.5.2 EL ANÁLISIS ROC o CURVA ROC

Para obtener la curva ROC, se calcula la sensibilidad y especificidad para cada uno de los diferentes valores observados en nuestros datos y se representan en una gráfica, con la Sensibilidad en el eje de las Y, y (1-Especificidad) en el eje de las X. En la situación ideal, una prueba que discrimina perfectamente, quedaría representado en la gráfica como una línea que coincidiría con los lados izquierdo y superior del cuadrado; mientras que una prueba que no discrimine en absoluto, corresponde a la línea diagonal (a 45°).

Cada punto en la figura de la curva representa **un par de sensibilidad/especificidad, correspondiente** a un umbral de decisión particular. Pueden producirse empates en los datos continuos. Un *empate* es de interés cuando un miembro del grupo enfermo tiene el mismo resultado que uno del grupo no enfermo. Una prueba diagnóstica con una discriminación perfecta tiene una curva que pasa a través de la esquina superior izquierda, donde la fracción de verdaderos positivos es 1 ó 100 % (sensibilidad perfecta) y la fracción de falsos positivos es 0 (especificidad perfecta). Una figura teórica para una prueba que no discrimina (distribución idéntica de los resultados para ambos grupos) es una línea diagonal de 45 o desde la esquina inferior izquierda hasta la superior derecha. La mayoría de las representaciones caen entre estos extremos. Cuanto más cerca esté la curva de la esquina superior izquierda, mayor será la precisión de la prueba.

AREA BAJO LA CURVA ROC (Area Under Curve, AUC)

El área bajo la curva ROC es una medida global de la exactitud de una prueba diagnóstica. Es la probabilidad de clasificar correctamente un par de individuos sano y enfermo, seleccionados al azar de la población, mediante los resultados obtenidos al aplicarles la prueba diagnóstica. Es decir, la probabilidad de que el resultado de la prueba resulte más anormal en el paciente enfermo [Hanley JA & McNeil BJ, 1982]. Permite expresar el desempeño de una prueba mediante un número simple.

Esta área, por convenio, **es siempre mayor o igual a 0,5**. El rango de valores se mueve entre 1 (DISCRIMINACIÓN PERFECTA entre las dos distribuciones) y 0,5 (no hay diferencias en la distribución de los valores de la prueba entre los 2 grupos). Se interpreta el AUC de la siguiente manera: valores entre 0,5 y 0,7 indican baja exactitud, entre 0,7 y 0,9 pueden ser útiles para algunos propósitos y un valor mayor de 0,9 indica exactitud alta [Swets JA, 1988].

3.5.3 ANÁLISIS ROC APLICADO PARA ESTABLECER EL PUNTO DE CORTE (cut-off) DEL PERÍMETRO DE CINTURA EN AMERINDIOS

Tanto el corte del perímetro de cintura en amerindios, el porcentaje de alelos y de obesos en la población estudiada y la correlación de obesos amerindios con los alelos del gen de PC-1, se han calculado a través del programa de ordenador de análisis de datos SPSS versión 14.0 para Windows.

Se han desechado para los cálculos algunos individuos genotipados para PC-1 por comprobarse posteriormente al genotipado que no cumplían alguno de los requisitos clínicos.

Las variables analizadas fueron: edad, sexo, parámetros antropométricos (circunferencia o perímetro de cintura), parámetros bioquímicos (colesterol-HDL, colesterol total, triglicéridos), y tensión arterial sistólica y diastólica.

Al no disponerse hasta el momento [Alberti *et al.*, 2009] de datos directos del punto de corte de circunferencia de la cintura marcador de obesidad correspondiente al grupo étnico amerindio, fue objetivo prioritario su definición de forma directa en este grupo de población en estudio [Arnaiz-Villena *et al.*, 2011]. Se tomó a todos los participantes amerindios la medida de la circunferencia de la cintura.

Como las muestras obtenidas correspondían al momento de la donación, desconociéndose el periodo de dieta y/o ayuno previo, y por tanto al momento del análisis [Bhutani *et al.*, 2010] y de la toma de medida de la circunferencia de la cintura, los parámetros bioquímicos glucosa, colesterol y triglicéridos no resultaban aplicables. El único parámetro metabólico fiable para excluir SM era el colesterol-HDL, estando demostrado que es completamente independiente de la dieta y el ayuno [Bhutani *et al.*, 2010]. Para definir SM se aplicó el valor del colesterol-HDL (<50 mg/dl en mujeres y <40 mg/dl en hombres), criterio del Panel de Expertos ATP III [Expert Panel. Adult Treatment Panel ATP III, 2001]. Individuos con valores inferiores, se excluyeron. Se utilizó como prueba objetiva de normalidad individual y por tanto, de cohorte.

Se utilizó análisis estadístico con curvas ROC para comparar la validez predictiva de los datos obtenidos de la circunferencia de la cintura y hallar sus valores de corte óptimos de circunferencia de la cintura. Las curvas ROC fueron representadas usando medidas de sensibilidad y especificidad basadas en el colesterol-HDL plasmático.

El significado estadístico del análisis ROC fue determinado por el área bajo la curva ROC y el intervalo de confianza del 95% [García *et al.*, 2006; Barbosa *et al.*, 2006].

3.5.4 MÉTODOS ESTADÍSTICOS EMPLEADOS

La **distribución GENOTÍPICA y ALÉLICA** en individuos OBESOS y NO OBESOS se comparó calculando el test chi-cuadrado (χ^2). El equilibrio de Hardy-Weinberg fue computado basado en el test de χ^2 goodness-of-fit realizado con el diagrama de De Finetti. Este diagrama se utiliza en genética de poblaciones. En su forma más sencilla el diagrama puede emplearse para mostrar el rango de las frecuencias genotípicas para las que satisfacen el equilibrio de Hardy-Weinberg. Su uso se ha extendido para demostrar los cambios que ocurren en las frecuencias alélicas bajo la selección natural.

Para **comparar variables continuas** expresadas como mediana y desviación estándar (SD) se utilizaron los test *t* de Student y ANOVA.

Las variables **valores de triglicéridos y colesterol-HDL** fueron transformados en logaritmos antes del análisis, para obtener una distribución normal.

Para comparar **variables que no se ajustaban a una distribución normal** (a pesar de la transformación logarítmica) se utilizaron los test no paramétricos U de Mann-Whitney.

Para evaluar el efecto del POLIMORFISMO Lys121Gln en la OBESIDAD después del ajuste para covariables (sexo, edad, parámetros bioquímicos y antropométricos), se realizaron análisis de regresión logística binaria, asumiendo un efecto genético aditivo y recesivo (los más plausibles en el polimorfismo Lys121Gln de PC1, de acuerdo con la literatura), y un efecto del alelo Gln121.

Se estimó el odds ratio ajustado y sus intervalos de confianza de 95% (IC 95%)

Se **compararon las frecuencias del alelo Gln121 del gen PC-1 en diferentes poblaciones** mediante un test de Fisher exacto.

La significación estadística fue definida como **$p < 0.05$**

Los análisis fueron realizado utilizando el programa estadístico SPSS/PC (*version 14.0 for Windows; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA*).

Se resume a continuación los test estadísticos empleados (Tabla 7).

Tabla 7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO. RESUMEN

TESTS PARAMÉTRICOS

- Test CHI-CUADRADO
- Equilibrio de Hardy-Weinberg
- Test t de STUDENT y
- ANOVA
- Transformación en logaritmos

TESTS NO PARAMÉTRICOS

- Test U Mann-Whitney y
- Test H de Kruskal Wallis
- Análisis de Regresión Logística
- Odds ratio (OR) ajustadas y
- sus intervalos de confianza (CI),
- Significación Estadística (SE)

Distribución GENOTÍPICA y ALÉLICA: comparación en individuos obesos y no obesos

Se computó basado en el Test χ^2 : goodness-of-fit (programa de DeFinetti)
Comparar variables continuas expresadas como medianas y desviación estándar

Niveles de triglicéridos y colesterol-HDL antes del análisis, para obtener una distribución normal

Las variables que, a pesar de la transformación logarítmica no se ajustaron a una distribución normal, fueron comparados empleando:

Evaluar efecto del **polimorfismo Lys121Gln** en la OBESIDAD tras ajustar covariables (sexo, edad, parámetros de BQ y antropométricos), asumiendo un **efecto genético ADITIVO y RECESIVO** (el mas plausible **polimorfismo PC-1 Lys121Gln**, según literatura), así como un **efecto Alelo Gln**

fueron estimados

Programa estadístico SPSS/PC statistical program (version 14.0 para Windows; SPSS,

RESULTADOS

RESULTADOS

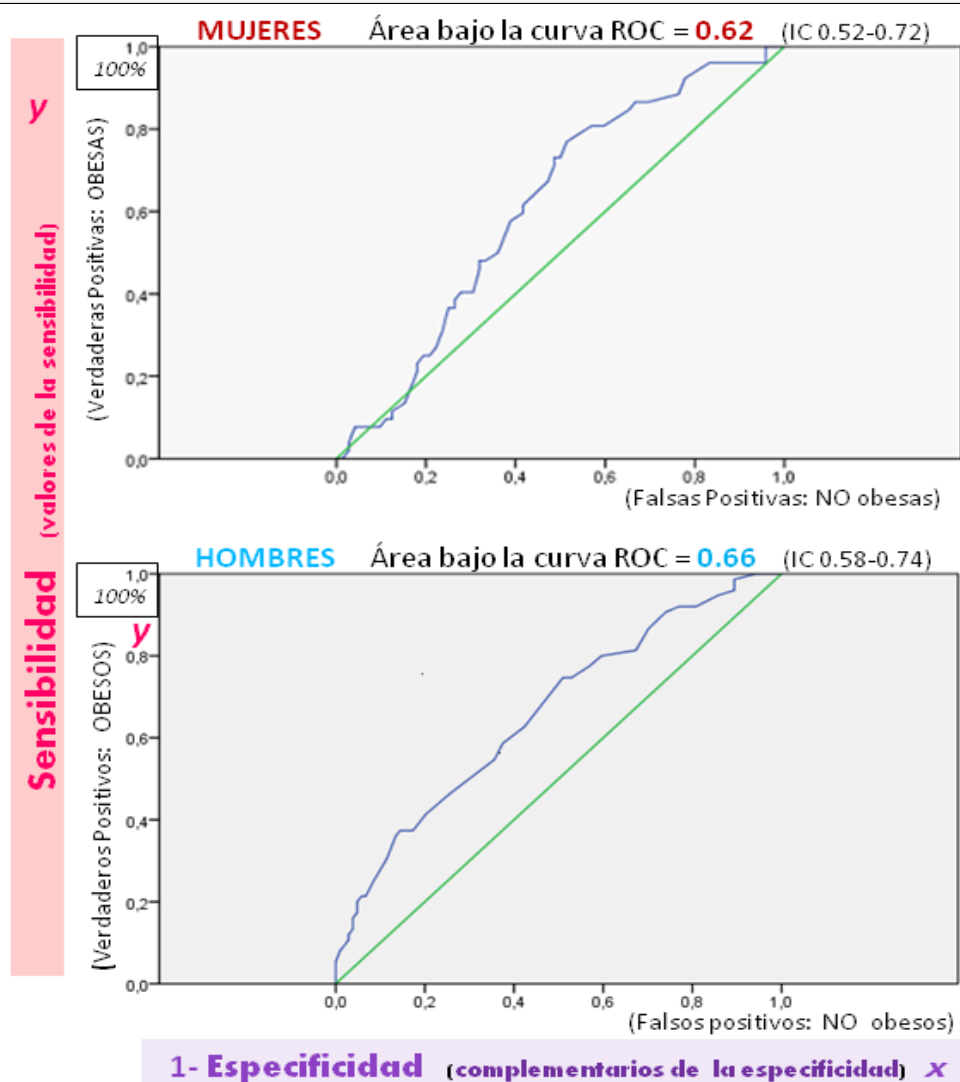
La muestra de individuos amerindios adultos estudiados fue 321 (129 mujeres y 192 varones).

4.1 PERÍMETRO DE CINTURA EN AMERINDIOS

Por primera vez se midió la circunferencia o perímetro de la cintura en los amerindios de forma directa para determinar los puntos de corte específicos de obesidad en los amerindios como había sido descrito [Alberti *et al.*, 2005; Alberti *et al.*, 2009].

Mediante el análisis ROC se hallaron los valores óptimos de sensibilidad y especificidad para definir los puntos de corte de circunferencia de la cintura en mujeres y hombres amerindios (Fig. 19).

Fig. 19. Representación de CURVA ROC. Valores de CIRCUNFERENCIA de CINTURA para valores de COLESTEROL-HDL



En la figura 18 se representa la curva ROC para mujeres y hombres, de valores de circunferencia de la cintura para valores de colesterol-HDL para identificar el punto de corte óptimo de medida de la

cintura para mujeres y hombres. La curva irregular está siguiendo los valores de la circunferencia de la cintura y se obtiene el valor óptimo.

Muestra los valores de Sensibilidad y Especificidad óptimos para definir los puntos de corte de circunferencia de la cintura en ambos sexos, que resultó 82.5 cm. en mujeres y 88.5 cm en varones. Estos valores resultaron también próximos a los valores medios (82.2 cm. en mujeres y 88 cm. en varones).

El Área bajo la curva ROC fue: mujeres 0.62 (IC 0.52-0.72) y hombres 0.66 (IC 0.58-0.74)

Los criterios usados para definir los puntos de corte del perímetro de la cintura en cada sexo se escogieron de acuerdo con los valores que mostraban el mejor balance entre sensibilidad (%) y especificidad (%), no inferior a 60%. Permitieron asignar los individuos obesos entre la población total con un buen nivel de exactitud [García et al., 2006; Barbosa et al., 2006].

Los resultados de la medida del perímetro de la cintura en amerindios sanos obtenida directamente (Tabla 8) son distintos a los empleados anteriormente [Alberti et al., 2005]. Se recomendaba utilizar de forma indirecta los valores hallados en poblaciones surasiáticas/japonesas, propuesto en consenso internacional [Alberti et al., 2009] (Tabla 8). Los amerindios incluidos en el grupo de obesos, fueron quienes tenían su perímetro de cintura igual o mayor de 82,5 cm (mujeres) e igual o mayor de 88,5 cm (hombres), según lo establecido en estudio previo, asemejándose más a los valores de surasiáticos [Arnaiz-Villena et al., 2012].

Tabla 8. Valores de CIRCUNFERENCIA DE CINTURA (cm.) y BIOQUÍMICOS obtenidos en el estudio. Comparación de valores "ASIMILADOS A ORIENTALES" y "MEDIDA DIRECTA" EN AMERINDIOS

PERÍMETRO DE CINTURA (cm.) y OBESIDAD en AMERINDIOS (según autores)						
Colesterol-HDL mg/dl	<u>"ASIMILACIÓN"</u> a			O B E S I D A D	<u>Medida "DIRECTA"</u>	
	CHINOS	JAPONESES	SURASIÁTICOS		en	Colesterol-HDL
					AMERINDIOS inmigrantes	mg/dl
					a Madrid	
♀ <50	♀ ≥ 80	♀ ≥ 90	♀ ≥ 80			♀ ≤ 50
♂ <40	♂ ≥ 90	♂ ≥ 85	♂ ≥ 90			♂ ≤ 40
	Alberti et al., 2005					
	♀ ≥ 80 cm	♂ ≥ 90 cm.			♀ 82.5 cm. ♂ 88.5 cm.	
	Alberti et al., 2009: CRITERIOS DE CONSENSO				Arnaiz-Villena et al., 2013	

Punto de corte hallado con análisis ROC: 82.5 cm. (mujeres) y 88.5 cm. (hombres).

Se eligieron individuos normales por sus valores plasmáticos normales de colesterol-HDL.

Valores medios: 82.2 cm. (mujeres) y 88 cm. (hombres)

4.2 DATOS GLOBALES DEL ESTUDIO

Los resultados globales obtenidos respecto a genotipo PC-1, medida del perímetro de la cintura, lípidos (colesterol, colesterol-HDL y triglicéridos), presión arterial, talla y peso, para la población total estudiada, mujeres y varones, obesos y no obesos, según su genotipo PC-1 se muestran a continuación desglosados en mujeres y hombres (Tabla 9a y 9b, respectivamente).

4.2.1 DATOS GLOBALES DEL ESTUDIO EN MUJERES

Tabla 9a. MUJERES AMERINDIAS. RESULTADOS: GENÉTICOS de PC-1, CIRCUNFERENCIA DE CINTURA, BIOQUÍMICOS y ANTROPOMÉTRICOS EN LA MUESTRA ESTUDIADA

MUESTRA		PC-1 GENOTIPO:			CINTURA OBESAS	HDL ≤40	COLES TEROL	TRIGLICÉ RIDOS	PRESIÓN ARTERIAL	TALLA	PESO
Nº orden	CÓDIGO ISBT	Lys/Lys	Gln/Lys	Gln/Gln	≥82,5 cm		mg/dl		mm Hg	metros	Kg
1	[3 344416]		CA		74	67	196	80	9/7	---	---
2	[1 344420]		CA		75	87	309	154	9/7	---	---
3	[6 246184]	AA			112	52	199	188	12/8	---	---
4	[4 246235]	AA			83	42	244	188	11/6	1.56	61
13	[1 118121]	AA			95	46	223	181	11/7	1.83	91
15	[1 431993]		CA		90	31	143	244	11/7	1.56	69
17	[2 431998]		CA		112	45	255	284	12/8	1.60	102
20	[8 344775]		CA		---	36	229	267	11/7	1.58	66
21	[2 344778]	AA			77	69	203	169	13/9	1.70	68
22	[2 344781]		CA		85	58	213	395	9/6	1.55	66
24	[5 831470]	AA			76	52	224	85	12/6	1.64	58
27	[1 344815]		CA		109	64	233	162	12/8	1.56	86
34	[8 625359]		CA		95	52	205	127	10/7	1.56	75
37	[6 118706]			CC	96	67	318	395	13/9	1.63	---
43	[3 755007]	AA			83	61	216	116	11/6	1.50	54
48	[5 345211]	AA			85	47	154	237	10/6	1.55	59
49	[4 345265]	AA			96	51	181	154	11/6	1.57	70
51	[0 592989]		CA		88	60	212	84	12/6	1.63	68
52	[3 592990]	AA			67	59	223	88	11/6	1.60	52
55	[7 755439]	AA			78	63	169	94	10/6	1.79	66
56	[9 247633]		CA		81	51	243	521	10/6	1.54	56
58	[1 247632]			CC	84	62	201	138	10/6	1.58	60
59	[8 432614]		CA		86	39	260	401	10/7	1.54	60
60	[2 432620]		CA		101	42	218	349	9/6	1.58	89
62	[5 345645]		CA		78	40	213	455	11/6	1.60	55
63	[9 593133]			CC	96	51	222	191	12/8	1.59	71
65	[8 119207]		CA		103	65	257	189	12/6	1.60	85
67	[6 626254]	AA			81	73	220	118	10/6	1.49	50
71	[5 432915]	AA			75	47	144	59	10/6	1.55	56
73	[2 518686]		CA		72	65	185	236	9/6	1.64	70
74	[2 346188]	AA			102	51	265	283	12/6	1.50	75
76	[3 346196]		CA		94	34	186	397	12/7	1.65	73
81	[2 248438]		CA		81	58	186	130	11/6	1.58	65
82	[1 248439]			CC	90	45	128	144	14/9	1.55	75
83	[4 248440]		CA		90	33	154	193	12/7	1.64	74
85	[1 248442]	AA			115	45	194	180	12/8	1.62	103
.....86	[9 248443]	AA			96	48	187	145	12/6	1.57	74

RESULTADOS

MUESTRA		PC-1 GENOTIPO:			CINTURA OBESAS	HDL ≤40	COLES TEROL	TRIGLICÉ RIDOS	PRESIÓN ARTERIAL	TALLA	PESO
Nº orden	CÓDIGO ISBT	Lys/Lys	Gln/Lys	Gln/Gln	≥82,5 cm		mg/dl		mm Hg	metros	Kg
.....87	[1 248447]	AA			112	45	250	187	12/6	1.68	93
90	[1 248456]	AA			97	39	184	204	11/6	1.52	67
91	[5 248462]	AA			82	---	---	---	11/6	1.62	61
93	[3 248494]		CA		94	56	186	72	11/6	1.53	66
95	[2 519482]	AA			107	54	238	206	13/7	1.52	88
99	[4 248731]		CA		92	60	162	420	11/6	1.75	69
100	[0 248739]		CA		92	64	---	90	12/6	1.60	64
101	[1 346975]	AA			82	30	161	441	12/6	1.55	67
102	[6 347080]	AA			111	58	165	85	10/6	1.51	78
103	[3 347090]		CA		98	87	293	125	12/8	1.64	92
105	[0 594046]	AA			103	46	148	134	11/6	1.58	85
109	[1 500349]	AA			74	31	118	104	13/7	1.58	55
112	[2 347681]	AA			84	31	138	54	11/6	1.50	58
115	[9 347814]	AA			84	31	96	40	9/6	1.56	62
118	[8 758025]	AA			87	42	217	223	11/6	1.65	64
119	[5 249966]	AA			99	31	174	177	9/6	1.50	65
120	[1 758144]	AA			83	24	140	122	12/8	1.56	62
122	[0 501719]	AA			87	28	107	59	11/8	1.55	62
125	[5 238353]	AA			89	56	289	252	12/7	1.50	67
127	[3 121292]	AA			90	60	299	159	12/6	1.52	67
131	[8 435402]		CA		98	40	159	197	11/6	1.56	75
133	[8 349653]	AA			79	58	180	214	11/6	1.68	58
139	[9 122938]		CA		70	69	236	67	---	1.54	59
140	[2 240551]		CA		84	90	240	79	12/7	1.62	64
141	[7 833511]	AA			77	62	180	139	10/6	1.51	55
142	[1 833514]	AA			100	61	264	227	11/6	1.53	68
143	[1 123103]	AA			74	38	237	504	13/8	1.50	58
144	[3 123107]	AA			125	50	268	109	11/8	1.63	126
145	[1 240776]	AA			72	52	318	416	11/7	1.51	64
149	[3 123561]	AA			107	66	191	212	10/6	1.58	76
151	[8 123564]	AA			64	71	218	82	8/5	1.65	58
152	[4 123583]		CA		87	54	159	62	11/6	1.58	75
154	[5 241365]			CC	99	53	177	88	10/8	1.70	85
156	[0 677430]	AA			82	59	164	93	12/7	1.47	60
157	[8 761605]	AA			88	45	424	851	15/9	1.55	60
162	[1 437558]	AA			85	25	109	330	10/6	1.54	71
163	[0 242262]	AA			82	35	124	130	10/6	1.50	63
168	[5 339585]		CA		72	57	205	121	---	1.59	57
171	[3 340074]	AA			82	52	157	48	11/7	1.68	66
173	[3 629794]	AA			89	46	224	161	10/6	1.59	79
177	[8 507389]	AA			83	45	232	213	12/8	1.68	71
179	[2 679295]	AA			79	51	209	187	10/5	1.50	59
180	[9 245039]	AA			81	36	206	246	12/8	1.77	75
185	[0 440453]	AA			86	34	216	234	13/9	1.59	83
186	[1 440458]	AA			74	60	197	137	11/7	1.66	60
190	[1 441889]	AA			70	54	162	84	13/9	1.54	56
193	[040142 21 S]	AA			86	75	237	71	10/7	1.52	62
197	[010244 21 I]		CA		81	41	92	64	13/9	1.60	68
207	[090213 21 I]	AA			74	67	247	141	13/9	1.64	71
209	[060738 21 J]	AA			76	66	238	125	13/9	1.67	67
214	[010360 21 U]		CA		71	52	165	53	11/8	1.72	54
215	[010363 21 O]		CA		98	32	294	701	12/8	1.62	74
217	[030913 21 G]		CA		91	64	198	144	10/7	1.62	68
....220	[041347 21 N]	AA			95	40	197	278	12/7	1.55	70

MUESTRA		PC-1 GENOTIPO:			CINTURA OBESAS	HDL ≤40	COLES TEROL	TRIGLICÉ RIDOS	PRESIÓN ARTERIAL	TALLA	PESO
Nº orden	CÓDIGO ISBT	Lys/Lys	Gln/Lys	Gln/Gln	≥82,5 cm	mg/dl			mm Hg	metros	Kg
221	[041525 21 J]			CA	88	66	231	146	12/8	1.58	66
226	[021481 21 I]	AA			74	62	200	65	9/6	1.65	58
227	[021488 21 O]			CC	68	37	146	84	11/8	1.63	56
233	[051761 21 O]			CA	81	65	275	135	12/8	1.59	62
242	[030087 21 P]	AA			94	45	174	258	12/8	1.58	88
243	[060953 21 P]			CA	116	35	298	291	12/8	1.68	115
244	[060966 21 F]	AA			70	64	219	145	13/8	1.69	69
246	[061207 21 3]			CA	79	57	199	96	9/6	1.55	67
255	[010691 21 C]			CA	70	106	163	81	10/7	1.55	53
256	[010693 21 8]			CA	79	45	215	184	10/6	1.49	62
258	[051504 21 H]	AA			93	40	218	266	11/7	1.80	86
260	[041690 21 D]			CA	99	48	231	334	11/8	1.55	84
262	[011253 21 3]			CA	79	46	198	238	11/7	1.54	62
263	[011255 21 *]	AA			76	66	259	78	10/6	1.56	60
270	[042938 21 I]	AA			85	56	221	157	14/10	1.64	76
273	[002902 21 M]			CA	76	37	124	118	11/7	1.64	70
274	[002954 21 Z]	AA			75	47	270	258	13/9	1.60	59
275	[064225 21 P]	AA			68	43	144	127	10/6	1.64	60
277	[055317 21 X]			CA	76	53	177	103	11/7	1.65	67
279	[055883 21 A]			CA	64	52	331	275	11/7	1.68	51
281	[044900 21 E]			CA	69	102	285	126	12/8	1.56	55
284	[024814 21 O]	AA			79	66	193	62	10/7	1.63	62
285	[013852 21 *]	AA			84	55	364	433	11/7	1.51	58
287	[068963 21 4]	AA			84	44	218	139	11/8	1.63	69
292	[035795 21 O]	AA			94	41	256	446	12/8	1.49	66
293	[035802 21 Y]	AA			94	71	206	82	13/9	1.56	76
294	[069129 21 J]	AA			100	45	259	308	10/7	1.44	72
295	[069133 21 R]	AA			116	54	201	469	13/8	1.68	98
297	[074060 21 3]	AA			80	53	213	176	11/7	1.60	60
298	[074095 21 I]			CA	96	43	163	663	12/8	1.62	70
301	[025632 21 X]			CA	84	59	206	103	10/7	1.60	62
302	[025638 21 L]	AA			92	46	258	332	13/9	1.66	89
303	[048343 21 D]	AA			80	60	211	152	11/8	1.52	61
307	[025978 21 I]			CA	100	72	183	75	12/8	1.67	105
308	[074791 21 7]	AA			76	71	158	46	10/7	1.68	58
311	[084527 21 F]			CA	84	---	---	---	11/7	1.56	64
313	[126737 21 H]	AA			76	---	---	---	11/6	1.58	55
315	[022155 21 4]	AA			80	---	---	---	10/7	1.52	57
321	[064058 21 V]			CA	104	---	---	---	10/6	1.59	80
130		75	47	6	1	5	6	5		1	1
		130									
					124						

4.2.2 DATOS GLOBALES DEL ESTUDIO EN HOMBRES

Tabla 9b. HOMBRES AMERINDIOS. RESULTADOS GENÉTICOS de PC-1, CIRCUNFERENCIA DE CINTURA, BIOQUÍMICOS y ANTROPOMÉTRICOS EN LA MUESTRA ESTUDIADA

MUESTRA		PC-1 GENOTIPO:		CINTURA OBESOS	HDL ≤50	COLES TEROL	TRIGLICÉ RIDOS	PRESIÓN ARTERIAL	TALLA	PESO
Nº orden	CÓDIGO ISBT	Lys/Lys	Gln/Lys Gln/Gln	≥88,5 cm		mg/dl		mm Hg	metros	Kg
5	[8 754217]	AA		91	48	234	227	12/8	1.75	62
6	[1 117964]		CA	82	44	208	178	11/7	1.68	61
7	[5 117967]		CA	82	52	159	151	11/6	1.68	64
8	[1 117972]		CA	79	42	138	69	12/6	1.85	70
9	[0 625943]		CA	94	39	167	420	11/7	1.76	84
10	[5 754339]		CC	88	38	264	280	11/7	1.77	74
11	[4 118111]	AA		109	46	234	185	11/7	1.67	87
12	[2 118112]		CA	94	43	271	132	14/8	1.75	79
14	[8 246555]		CA	100	40	189	119	12/7	1.70	84
16	[4 431997]	AA		90	28	188	250	9/7	1.72	76
18	[1 431999]	AA		90	27	257	608	10/7	1.67	82
19	[8 432015]		CA	99	38	238	328	11/8	1.80	87
23	[4 344794]		CA	90	41	227	472	10/6	1.59	72
25	[0 344807]	AA		95	38	295	124	11/8	1.71	81
26	[8 344808]		CA	---	37	267	348	---	---	---
28	[9 344816]	AA		77	36	173	121	10/7	1.85	73
29	[5 674460]		CA	76	54	147	92	11/7	1.78	---
30	[0 118475]	AA		105	30	248	304	12/7	1.70	---
31	[3 118490]		CA	80	57	153	59	11/8	1.76	---
32	[8 118493]	AA		106	33	167	154	15/9	1.72	---
33	[4 345041]	AA		94	24	214	565	14/10	1.80	80
35	[3 118621]	AA		75	62	196	58	10/7	1.55	60
36	[8 118641]	AA		96	66	242	143	11/8	1.58	72
38	[0 345083]	AA		85	37	252	544	12/7	1.56	56
39	[8 345084]	AA		108	37	228	219	12/7	1.78	84
40	[6 345085]	AA		100	36	215	232	12/6	1.74	83
41	[2 345090]	AA		80	48	160	157	11/7	1.73	67
42	[9 755004]	AA		113	37	226	340	10/6	1.75	105
44	[1 432148]		CA	92	44	154	73	11/7	1.90	76
45	[8 247267]		CA	93	43	169	155	12/6	1.78	85
46	[4 247272]		CA	131	28	257	343	13/8	1.80	125
47	[1 345205]		CA	96	50	259	322	12/7	1.67	77
50	[5 345273]	AA		100	46	266	217	11/6	1.75	84
53	[1 432397]		CA	95	35	331	627	12/6	1.67	68
54	[3 432429]		CA	70	77	191	68	11/6	1.70	63
57	[4 432549]	AA		94	45	253	255	11/7	1.70	80
61	[2 345638]	AA		91	49	173	160	13/9	1.73	68
64	[1 119205]		CA	86	42	248	335	13/6	1.67	65
66	[4 119209]		CC	100	35	217	304	11/6	1.75	80
68	[2 119275]	AA		100	44	258	374	12/9	1.74	100
69	[9 432913]	AA		94	41	166	190	12/7	1.70	74
70	[0 593222]	AA		109	31	316	657	11/8	1.65	98
72	[1 432934]		CC	118	26	249	889	11/7	1.73	107
75	[1 346189]	AA		92	46	241	352	12/7	1.65	75
77	[8 346199]		CA	91	32	213	467	12/8	1.75	76
78	[5 248283]	AA		106	42	263	277	13/8	1.70	90
79	[8 248290]		CA	104	37	311	488	12/7	1.86	88
...80	[0 248434]	AA		99	47	254	323	12/6	1.78	87

MUESTRA		PC-1 GENOTIPO:		CINTURA OBESOS	HDL ≤50	COLES TEROL	TRIGLICÉ RIDOS	PRESIÓN ARTERIAL	TALLA	PESO
Nº Orden	CÓDIGO ISBT	Lys/Lys	Gln/Lys	Gln/Gln	≥88,5 cm	mgr/dl		mm Hg	metros	Kg
...84	[2 248441]	AA			112	35	248	391	13/7	94
88	[1 248450]			CC	86	47	194	84	11/7	64
89	[2 248455]	AA			93	37	194	268	13/7	64
92	[5 248493]	AA			90	---	---	---	12/6	74
94	[8 248502]		CA		112	30	215	516	12/6	100
96	[5 248722]			CC	111	40	209	260	12/6	92
97	[6 248727]	AA			102	55	204	218	13/8	96
98	[6 248730]	AA			95	65	209	99	12/7	85
104	[4 347209]		CA		95	53	203	117	12/8	74
106	[1 347401]		CA		83	32	91	59	12/6	80
107	[4 347405]	AA			100	24	74	34	12/6	109
108	[1 347407]	AA			88	42	109	30	12/7	80
110	[2 120295]	AA			88	25	130	165	12/6	69
111	[4 500476]		CA		111	25	106	111	11/6	89
113	[9 500871]	AA			79	49	150	69	11/6	65
114	[8 120602]		CA		90	34	121	77	12/6	82
117	[0 757987]			CC	88	34	163	287	---	69
121	[1 758149]	AA			83	25	115	79	12/7	85
123	[1 501721]	AA			89	31	129	95	11/6	87
124	[7 238349]		CA		82	50	187	86	12/7	64
126	[1 238355]	AA			89	49	389	316	13/7	67
128	[3 238449]	AA			110	41	193	308	13/7	90
129	[3 758862]	AA			88	51	234	195	11/6	56
130	[7 349340]	AA			98	20	51	38	14/7	82
132	[2 435405]	AA			84	44	216	341	11/6	62
134	[6 349654]	AA			107	38	143	266	12/8	98
135	[4 349655]	AA			97	40	240	189	11/6	85
136	[4 436293]	AA			72	48	151	81	11/6	64
137	[0 436385]	AA			78	57	330	531	12/8	80
138	[7 436400]		CA		74	44	212	141	12/9	72
146	[1 595009]		CA		85	74	240	173	13/9	70
147	[7 123489]		CA		99	64	329	254	11/7	89
148	[5 123557]	AA			90	51	277	254	9/6	80
150	[1 123562]		CA		99	40	196	182	11/8	90
153	[1 595298]			CC	76	40	232	315	9/6	52
155	[6 123727]	AA			94	30	176	189	12/8	85
158	[0 338280]	AA			97	30	119	98	12/8	80
159	[5 338310]		CA		93	25	166	487	11/7	84
160	[8 338314]	AA			92	45	152	49	11/8	74
161	[6 338332]		CA		77	38	121	190	10/7	70
164	[2 242266]		CA		98	22	177	578	13/9	102
165	[9 242271]	AA			88	32	238	214	11/8	63
166	[1 242275]		CA		86	29	125	245	12/8	78
167	[0 629166]	AA			82	35	88	69	11/6	60
169	[3 339586]	AA			76	40	166	96	---	73
170	[7 834755]	AA			84	34	267	425	---	78
172	[6 340081]		CA		84	55	190	99	10/6	69
174	[1 340716]	AA			84	41	191	124	10/6	75
175	[3 340785]	AA			98	35	213	533	12/7	105
176	[5 125406]	AA			86	40	264	248	9/6	88
178	[8 679292]	AA			81	40	272	376	12/9	82
...181	[0 245081]			CC	87	43	202	88	11/8	80

RESULTADOS

MUESTRA		PC-1 GENOTIPO:			CINTURA OBESOS	HDL ≤50	COLES TEROL	TRIGLICÉ RIDOS	PRESIÓN ARTERIAL	TALLA	PESO
Nºorden	CODIGO ISBT	Lys/Lys	Gln/Lys	Gln/Gln	≥88,5 cm		mgr/dl		mm Hg	metros	Kg
.....182	[4 440277]		CA		87	66	222	154	14/9	1.69	70
183	[2 440314]			CC	92	40	221	196	12/8	1.85	87
184	[6 246167]		CA		83	25	326	395	13/9	1.60	85
187	[4 440487]	AA			83	54	156	58	10/7	1.60	65
188	[1 344426]		CA		74	68	275	152	12/8	1.64	58
189	[8 344534]			CC	90	40	317	243	12/8	1.68	72
191	[01004321 J]			CC	83	48	271	311	12/8	1.80	105
192	[01005321 F]		CA		79	39	251	242	11/8	1.74	72
194	[03012521 P]	AA			86	50	197	71	11/8	1.87	84
195	[07010421 I]	AA			95	31	149	234	12/8	1.69	80
196	[010242 21 5]	AA			117	39	207	307	12/8	1.68	100
198	[010257 21 S]	AA			94	46	174	86	13/8	1.82	88
199	[02033621 Z]		CA		85	30	225	369	11/7	1.67	67
200	[020368 21 J]		CA		81	41	155	74	12/7	1.78	80
201	[020369 21 H]			CC	86	47	235	327	12/7	1.78	96
202	[030372 21 W]	AA			78	---	---	---	12/7	1.75	72
203	[030383 21 Q]	AA			92	34	233	211	11/7	1.71	92
204	[030387 21 I]		CA		79	61	245	147	11/8	1.70	80
205	[030389 21 E]	AA			76	43	225	208	10/6	1.81	77
206	[060515 21 C]	AA			90	67	207	128	13/9	1.68	68
208	[010698 21 F]			CC	79	49	185	112	10/7	1.60	71
210	[030573 21 E]	AA			86	31	241	623	11/8	1.54	75
211	[020614 21 N]	AA			89	30	212	262	10/6	1.63	92
212	[020643 21 D]	AA			76	37	262	382	13/8	1.80	79
213	[020646 21 7]	AA			92	38	290	160	14/8	1.58	65
216	[041226 21 4]		CA		93	36	243	223	11/8	1.74	80
218	[030965 21 J]	AA			92	32	177	414	12/7	1.75	95
219	[041346 21 P]	AA			103	30	131	172	12/8	1.68	87
222	[041539 21 7]	AA			78	52	201	80	10/6	1.70	64
223	[041540 21 L]			CC	79	57	256	328	14/10	1.73	85
224	[020167 21 Y]		CA		74	59	193	226	10/7	1.70	70
225	[021480 21 3]		CA		78	43	245	316	12/7	1.72	74
228	[021489 21 M]	AA			83	45	216	203	12/9	1.77	95
229	[051730 21 E]		CA		95	41	248	304	12/9	1.79	93
230	[051738 21 Z]	AA			79	34	261	322	12/9	1.74	66
231	[051748 21 V]		CA		93	55	263	199	13/8	1.78	89
232	[051760 21 2]	AA			94	25	250	975	12/9	1.70	71
235	[041820 21 5]	AA			91	38	306	335	14/10	1.69	95
236	[041829 21 0]	AA			81	33	264	965	10/7	1.81	81
237	[010074 21 P]	AA			99	28	207	242	11/7	1.73	85
238	[010221 21 Z]	AA			95	41	239	283	11/8	1.70	80
239	[050570 21 D]	AA			99	34	249	433	12/8	1.75	80
240	[030077 21 T]		CA		100	37	324	382	11/7	1.75	85
241	[030081 21 0]	AA			89	41	131	79	12/6	1.74	71
245	[050917 21 S]	AA			91	37	283	209	14/10	1.65	70
247	[061209 21 *]		CA		96	41	281	210	14/9	1.65	80
248	[061214 21 5]	AA			98	33	210	215	12/8	1.71	90
249	[061215 21 3]	AA			88	50	252	181	10/7	1.72	79
250	[020643 21 X]		CA		93	43	155	132	10/6	1.75	73
251	[010632 21 Y]	AA			94	71	268	93	13/9	1.65	79
252	[010639 21 K]	AA			78	33	273	323	11/8	1.70	65
...253	[010640 21 Y]	AA			82	29	212	269	12/8	1.70	72

MUESTRA		PC-1 GENOTIPO:			CINTURA OBESOS	HDL ≤50	COLES TEROL	TRIGLICÉ RIDOS	PRESIÓN ARTERIAL	TALLA	PESO
Nºorden	CODIGO ISBT	Lys/Lys	Gln/Lys	Gln/Gln	≥88,5 cm	mgr/dl			mm Hg	metros	Kg
.....254	[010641 21 W]	AA			82	88	258	137	10/7	1.79	82
257	[010697 21 O]		CA		101	52	300	299	12/8	1.65	90
259	[010772 21 A]	AA			93	49	383	184	12/8	1.64	74
261	[011252 21 S]	AA			88	38	253	208	11/7	1.71	78
264	[011258 21 U]	AA			85	41	230	124	12/8	1.72	78
265	[031045 21 T]	AA			83	30	203	519	11/7	1.64	63
266	[031051 21 X]			CC	112	45	197	168	12/9	1.83	124
267	[042911 21 J]		CA		110	35	283	265	14/9	1.74	113
268	[042914 21 Y]	AA			88	37	227	262	14/9	1.70	63
269	[042927 21 O]		CA		94	51	281	176	11/7	1.50	77
271	[022370 21 J]			CC	89	53	236	151	14/10	1.70	83
272	[022379 21 I]	AA			83	51	257	254	11/8	1.63	74
276	[055305 21 4]	AA			82	29	223	702	13/9	1.62	70
278	[055320 21 6]		CA		89	39	206	98	11/8	1.65	94
280	[055886 21 4]	AA			89	57	325	458	13/9	1.78	93
282	[005621 21 T]	AA			98	46	215	105	12/8	1.80	96
283	[005825 21 5]	AA			92	54	258	134	11/8	1.71	83
286	[024970 21 D]	AA			84	41	210	217	11/8	1.65	84
288	[083629 21 B]	AA			80	54	172	194	11/7	1.68	56
289	[047389 21 I]			CC	84	68	282	290	12/8	1.70	71
290	[047394 21 7]	AA			88	53	219	144	10/6	1.73	85
291	[025107 21 I]	AA			91	41	246	446	13/8	1.72	75
296	[056626 21 S]	AA			79	47	200	117	12/7	1.62	65
299	[093843 21 4]		CA		84	46	208	194	12/8	1.72	77
300	[074257 21 E]	AA			76	74	252	178	12/8	1.80	68
304	[014826 21 O]	AA			80	45	185	168	12/8	1.63	67
305	[048431 21 D]	AA			88	55	204	164	11/8	1.65	78
306	[057883 21 F]		CA		84	47	340	689	13/8	1.60	71
309	[048743 21 I]	AA			102	37	208	333	13/8	1.77	85
310	[094790 21 J]		CA		84	41	281	272	12/8	1.76	79
312	[126732 21 R]		CA		56	---	---	---	13/8	1.50	94
314	[022150 21 E]	AA			96	---	---	---	11/7	1.71	90
316	[022178 21 R]		CA		92	---	---	---	---	1.82	86
317	[022183 21 X]		CA		88	---	---	---	---	1.62	76
318	[105838 21 D]	AA			52	---	---	---	12/8	1.78	82
319	[064050 21 A]	AA			88	---	---	---	11/8	1.52	72
320	[064056 21 Z]	AA			84	---	---	---	11/8	1.73	82
322	[064061 21 4]	AA			92	---	---	---	13/6	1.62	85
323	[064063 21 O]		CA		84	---	---	---	11/7	1.60	70
324	[127147 21 8]	AA			88	---	---	---	13/8	1.75	92
192		115	60	17	1	12	12	12	4	1	5
		192			13						
		179									

En las Tablas 9a y 9b, las muestras que aparecen con fondo gris son las no se pudieron utilizar en algunos análisis estadísticos por resultar incompletas para el parámetro analizado.

4.3 ASOCIACIÓN Lys/Gln121 en la población amerindia “total” (Obesos y No obesos) con parámetros bioquímicos y antropométricos (Tabla 10).

Los datos bioquímicos y antropométricos en la población total de amerindios (obesos y no obesos) comparados con su genotipo PC-1 y alelos, se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Datos BIOQUÍMICOS/ANTROPOMÉTRICOS en población amerindia total según GENOTIPO PC-1/ALELOS

	GENOTIPOS PC-1 (Frecuencia)					ALELOS (Frecuencia)	
	Lys/Lys (59.5%)	Lys/Gln (33.3%)	Gln/Gln (7.2%)	Lys/Lys + Lys/Gln	Lys/Gln + Gln/Gln	Lys121 (76%)	Gln121 (24%) Alelo patológico
SEXO (♀/♂)	76/115	48/60	6/17	124/176	54/78	124/176	54/78
Edad	38.0 ± 9.3	38.5 ± 9.5	37.5 ± 8.9	38.2 ± 9.3	38.4 ± 9.4	38.2 ± 9.3	38.1 ± 9.3
CINTURA	88.7 ± 11.2	88.2 ± 11.9	90.5 ± 11.8	88.5 ± 11.4	88.6 ± 11.9	88.6 ± 11.3	88.9 ± 11.8
Colesterol -HDL *	45.1 ± 12.7*	49.2 ± 19.2	46.3 ± 10.5	46.6 ± 14.1	48.7 ± 15	46.0 ± 13.6	48.3 ± 14.6
Colesterol*	213.4 ± 57.1	216.6 ± 57.3	222.7 ± 48.8	214.6 ± 57.1	217.7 ± 55.70	214.1 ± 57.1	218.5 ± 54.6
Triglicéridos*	228.7 ± 162.9	232.1 ± 156.6	246.7 ± 169.1	229.9 ± 160.4	234.8 ± 158.3	229.5 ± 161.2	236.6 ± 159.5
T.A Sistólica	11.5 ± 1.3	11.4 ± 1.2	11.7 ± 1.3	11.5 ± 1.2	11.5 ± 1.2	11.5 ± 1.2	11.5 ± 1.2
T.ADiastólica	7.3 ± 1.3	7.3 ± 1.1	7.7 ± 1.2	7.3 ± 1.2	7.3 ± 1.2	7.3 ± 1.2	7.4 ± 1.2

* Los triglicéridos con sesgo fueron transformados logarítmicamente para eliminarlo.

^a *t* de Student de muestras independientes. ^b U de Mann-Whitney.

Colesterol-HDL. La media del colesterol-HDL en el grupo portador del genotipo Lys121Lys (45.1 ± 12.7 mg/dl) es significativamente inferior ($p = 0.026$) a la del grupo portador de los genotipos Lys121Gln (46.3 ± 10.5 y Gln121Gln (48.7 ± 15.2 mg/dl).

Sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los valores de colesterol-HDL cuando se utilizó un test de comparación de medias (test *t* de Student).

El resto de parámetros: no mostraron diferencias significativas cuando se compararon a los grupos genotípicos PC-1.

Tampoco se encontró asociación estadísticamente significativa cuando se analizó la población amerindia de modo separado en grupos de obesos y no obesos (datos no mostrados)

Además, no se encontraron diferencias significativas para las mismas características anteriores entre los portadores de Lys121Lys y los portadores de 121Gln en población obesa y entre estos mismos grupos en la población no obesa (datos no mostrados).

Las frecuencias de los GENOTIPOS de PC-1 en la población total, fue Lys121Lys (59.5%), Lys121Gln (33.3%) y Gln121Gln (7.2%), representando el 40.68% de los portadores del alelo de susceptibilidad de riesgo de obesidad

La frecuencia de los ALELOS de PC-1 fue: alelo Lys (76%) y alelo Gln (24 %).

Estas frecuencias genotípicas y alélicas fueron muy similares a las que encontramos en nuestras poblaciones obesa y no obesa, cuando se define la obesidad por la circunferencia de la cintura. Tal es así que no hay diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de estos genotipos y alelos ($p = 0.96$ y $p = 0.80$, respectivamente) en población obesa y no obesa (Tabla 11). La distribución genotípica de este polimorfismo Lys121Gln de PC-1 no se desvía significativamente del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 11. Frecuencias GENOTÍPICAS Y ALÉLICAS del POLIMORFISMO PC-1 Lys121Gln en AMERINDIOS OBESOS vs. NO OBESOS y diferenciada por SEXO

		GENOTIPOS (%)			Alelos (%)		valor <i>p</i> *	
		Lys/Lys	Lys/Gln	Gln/Gln	Lys121	Gln121	Genotipo	Alelo
T O T A L 321	OBESOS	106	59	12	271	83	0.96	0.8
	177 (55.14%)	(33.02)	(18.38)	(3.74)	(42.21)	(12.93)		
	NO OBESOS	85	48	11	218	70		
	144 (44.8%)	(26.48)	(14.95)	(3.43)	(33.96)	(10.90)		
		191	107	23	489	153		
H O M B R E S 192	♂ OBESOS	64	31	7	159	45	0.52	0.24
	192 (53.12%)	(33.33)	(16.15)	(3.65)	(41.41)	(11.72)		
	♂ NO OBESOS	51	29	10	131	49		
	90 (46.87%)	(26.56)	(15.10)	(5.21)	(34.11)	(12.76)		
		115	60	17	390	94		
M U J E R E S 129	♀ OBESAS	42	28	5	121	38	0.39	0.27
	75 (58.13%)	(32.56)	(21.71)	(3.87)	(46.90)	(14.73)		
	♀ NO OBESAS	34	19	1	87	21		
	54 (41.86%)	(26.35)	(14.73)	(0.78)	(33.72)	(8.14)		
		76	47	6	208	59		

No se halló asociación entre Obesidad y el alelo Gln121. *Test χ^2

El porcentaje de amerindios obesos totales fue 55.14%, siendo los hombres obesos el 53.12% y las mujeres obesas el 58.13% (Tabla 11).

4.4 NO ASOCIACIÓN Lys/Gln en amerindios obesos y no obesos (Tabla 11)

ASOCIACIÓN GENÉTICA

La obesidad fue definida según la circunferencia de la cintura [Alberti *et al.*, 2005; Arnaiz-Villena *et al.*, 2011]. No se encontró asociación significativa entre los portadores 121Gln y obesidad ($p = 0.96$),

así como tampoco entre el alelo Gln121 y obesidad ($p = 0.80$). Tampoco se encontró asociación significativa cuando se analizó la población amerindia separando a los individuos por sexo.

4.5 MODOS DE TESTAR LA SUSCEPTIBILIDAD A LA HERENCIA A LA OBESIDAD CAUSADA POR EL POLIMORFISMO PC-1 Lys/Gln121 (Tabla 12)

Se utilizó análisis de regresión logística para excluir cualquier posible efecto de variables determinantes de obesidad diferentes del genotipo PC-1 como el sexo, la edad y parámetros bioquímicos (colesterol, colesterol-HDL y triglicéridos).

Los resultados en la obesidad definida mediante la circunferencia de la cintura muestran que la variante PC-1 Gln121 no estaba independientemente asociada a la obesidad (Tabla 12)

Tabla 12. Análisis de asociación para el polimorfismo PC-1 Lys121Gln y obesidad definido por PERÍMETRO DE CINTURA (regresión logística)

	Modelo ADITIVO (Lys/Lys vs. Lys/Gln) = (Lys/Gln vs. Gln/Gln)			Modelo RECESIVO (Gln/Gln vs. Lys/Lys + Lys/Gln)			PORTADORES de alelo Gln121		
	OR	95% IC	valor p	OR	95% IC	valor p	OR	95% IC	valor p
Obesidad por PERÍMETRO DE CINTURA	1.07 ^a	0.56-2.02	0.85	0.59 ^a	0.20-1.78	0.35	0.90 ^a	0.49-1.65	0.74

PC perímetro de la cintura, OR odds ratio, 95 % IC, 95% intervalo de confianza.

^a Ajustado para sexo, edad, colesterol, colesterol-HDL y triglicéridos

4.6 FRECUENCIAS DEL GEN PC-1 121 EN POBLACIONES DEL MUNDO (Tabla 13)

Los amerindios por primera vez en este trabajo [Rey *et al.*, 2011] pueden añadirse a la lista de poblaciones humanas en la literatura que consideran las frecuencias del alelo Gln121. Se observa un gradiente de frecuencias de menor a mayor: orientales, caucasoides, amerindios y negroides africanos, que puede ser considerado como gradiente de distribución geográfica de norte a sur.

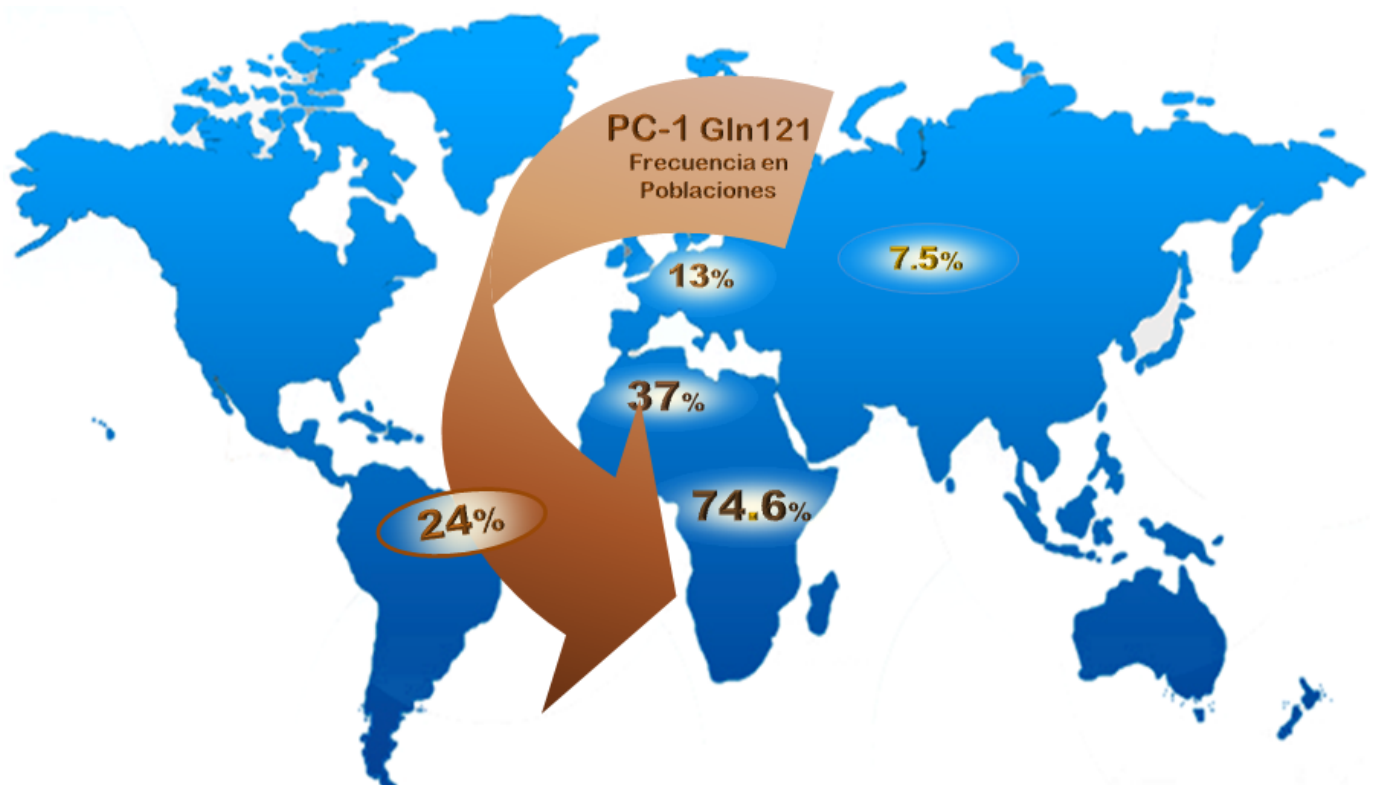
La frecuencia del alelo Gln121 en chinos Han (la más baja, 7,5%) se comparó con la frecuencia de las restantes poblaciones estudiadas en la literatura utilizando el test exacto de Fisher. Se encontró estadísticamente diferente de los amerindios, caucasoides norteafricanos y negroides africano-americanos (Tabla 13), resultando: chinos Han (7,5%), menor que **orientales** (coreanos 9.4%, japoneses 10.5%), menor que caucasoides (alemanes, daneses y británicos (13,3%), menor que **nuestra muestra de amerindios (24,0%)**, menor que caucasoides norteafricanos (37,3%) y menor que negroides africanos (media de 74.6%).

Tabla 13. Diferencias en las FRECUENCIAS del ALELO Gln121 PC-1 en POBLACIONES MUNDIALES

Población		Frecuencia Gln121 (%)	Valor <i>p</i>	Referencia
ORIENTALES	Chinos Han	7.5	-	Wan et al. 2006
CAUCASOIDES	Coreanos	9.4	0.56	Seo et al. 2008
	Japoneses	10.5	0.95	Keshavarz et al. 2006
	Alemanes	13.3	0.18	Gouni-Berthold et al. 2006
	Daneses	13.3	0.11	Grarup et al. 2006
	Británicos	13.5	0.11	Weedon et al. 2006
	Espanoles	14.0	0.46	Gonzalez-Sanchez JL et al. 2003
	Sicilianos	17.8	0.01	Pizzutti et al. 1997
AMERINDIOS	Inmigrantes a Madrid	24.0	<0.0001	Rey et al., 2011
CAUCASOIDES NORTEAFRICANOS	Marroquíes	37.3	<0.0001	El Achhab et al. 2009
NEGROIDES AFRICANOAMERICANOS	N. York	74.6	<0.0001	Matsuoka et al. 2006

Estos datos se pueden interpretar como un posible **gradiente de frecuencias del alelo de riesgo de obesidad 121Gln** de distribución geográfica Norte a Sur en el Viejo Mundo (Fig. 21):

Fig. 20. Posible GRADIENTE geográfico NORTE-SUR en el Viejo Mundo de de frecuencia del alelo de riesgo Gln-121



4.7 DETECCIÓN DE ALELOS HLA

4.7.1 FRECUENCIAS ALÉLICAS HLA CARACTERÍSTICAS HALLADAS EN LA POBLACIÓN AMERINDIA ESTUDIADA. COMPARACIÓN CON OTRAS POBLACIONES

Los valores de frecuencias para los loci HLA-A, -B, -DRB1 y -DQB1 esperados y observados no difieren significativamente y la población estudiada se encuentra en el equilibrio de Hardy-Weinberg. Las frecuencias de los alelos HLA halladas en la población amerindia resultó mayor de 4% en los siguientes alelos: 5 alelos HLA-A, 3 alelos HLA-B, 8 alelos HLA-DRB1 y 8 alelos HLA-DQB1. [*Parga-Lozano C et al*, 2011].

A*0201, A*2402, A*0101, A*0301, A*1101.

B*3501, B*5101, B*1402.

DRB1*1402, DRB1*0407, DRB1*0701, DRB1*0301, DRB1*0802, DRB1*1301, DRB1*0901, DRB1*0101.

DQB1*0301, DQB1*0302, DQB1*0501, DQB1*0201, DQB1*0402, DQB1*0303, DQB1*0603 y DQB1*0202.

La mayoría de estos alelos han sido hallados ya en amerindios. Las frecuencias de los alelos DQB1 reflejan la distribución del locus alelo DRB1 debido al fuerte desequilibrio de unión entre estos dos loci.

Se realizaron dendrogramas Neighbour Joining y análisis de correspondencia para comparar las frecuencias de HLA clase II en nuestra muestra de amerindios con las frecuencias de otras poblaciones del mundo. No fue posible realizar un estudio comparando las frecuencias alélicas HLA clase I y clase II conjuntamente debido a la falta de estudios clase I en muchas poblaciones en el mundo. El estudio DRB1 fue realizado con los programas de software TreeView (de DISPAN software) para comparar las frecuencias HLA de nuestra población amerindia con las de caucasoides y siberianos que carecían de análisis DQB1 [*Moscoso J et al*, 2008].

En un árbol Neighbour-Joining (NJ) de relaciones HLA-DRB1 se muestra cómo nuestros amerindios se agrupan en su mayoría con grupos étnicos amerindios y también con los grupos esquimales y Na-Dené. No obstante, análisis de correspondencia basados en las frecuencias de los alelos HLA-DRB1 y HLA-DQB1 muestran que nuestra muestra se agruparon junto a amerindios autóctonos aislados y Na-Dené pero no con grupos esquimales [*Arnaiz-Villena A et al*, 2005; *Moscoso J et al*, 2006; *Martínez-Laso J et al*, 2006; *Arnaiz-Villena A et al*, 2009].

4.7.2 ANÁLISIS DEL HAPLOTIPO EXTENDIDO HLA-A, -B, -DRB1 Y -DQB1 EN AMERINDIOS INMIGRANTES: COMPARACIÓN CON OTRAS POBLACIONES.

Se estimaron las asociaciones entre diferentes loci HLA. Las diez combinaciones más frecuentes para los cuatro loci del haplotipo (A-B-DRB1-DQB1) fueron calculadas y estos haplotipos extendidos se muestran en la siguiente tabla y representan el 10.3 % de todos los haplotipos (Tabla 14).

Tabla 14. 10 haplotipos más comunes y sus frecuencias (x100) entre amerindios inmigrantes a Madrid
[Parga-Lozano et al., 2011]

HAPLOTIPO	%	Possible Origen	Hallado en otras poblaciones
A*0101-B*0801-DRB1*0301-DQB1*0201	2.07	Caucasoide [§, ≠]	Similar en Irlanda del Sur (11.5%) y Polonia (4%)
A*2402-B*3501-DRB1*1402-DQB1*0301	1.52	Amerindio (Nuevo)	en ninguna otra población
A*1101-B*3501-DRB1*0101-DQB1*0501	1.30	Amerindio (Nuevo)	en ninguna otra población
A*0201-B*4002-DRB1*1402-DQB1*0301	1.00	Amerindio [§§]	Similar en Tarahumaras,(Chihuahua),México (3.4%)
A*0201-B*3501-DRB1*1402-DQB1*0301	0.81	Amerindio (Nuevo)	en ninguna otra población
A*0201-B*3501-DRB1*0407-DQB1*0302	0.78	Amerindio (Nuevo)	en ninguna otra población
A*0301-B*3501-DRB1*0101-DQB1*0501	0.78	Amerindio (Nuevo)	en ninguna otra población
A*2902-B*4403-DRB1*0701-DQB1*0202	0.78	Caucasoide [§, ≠]	Similar en Irlanda del Sur (1.3%) y Túnez (4%)
A*3201-B*1401-DRB1*0701-DQB1*0201	0.78	Amerindio (Nuevo)	en ninguna otra población
A*0101-B*1402-DRB1*0102-DQB1*0501	0.52	Amerindio (Nuevo)	en ninguna otra población

[§ Dunne C et al,2008; ≠ Nowak J et al,2008]; [§§ Garcia-Ortiz JE et al,2006]; [§ Dunne C et al,2008; ≠ Ayed K et al,2004]

Los haplotipos extendidos de amerindios han sido obtenidos por primera vez, permitiendo su comparación con los reportados previamente en otras poblaciones (Tabla 14). Los haplotipos extendidos más frecuentes hallados en la población amerindia inmigrante (el 4.9% de los haplotipos totales) son los tres siguientes:

A*0101-B*0801-DRB1*0301-DQB1*0201

A*2402-B*3501-DRB1*1402-DQB1*0301 y

A*1101-B*3501-DRB1*0101-DQB1*0501

La mayoría de los haplotipos extendidos son amerindios; no obstante, no se encontraron *haplotipos de alta frecuencia, indicando que no eran grupos étnicos aislados como los Aymaras* [Arnaiz-Villena et al., 2005]. Otros haplotipos HLA extendidos no han sido hallados en ninguna otra población y también son presumiblemente amerindios (Tabla 14).

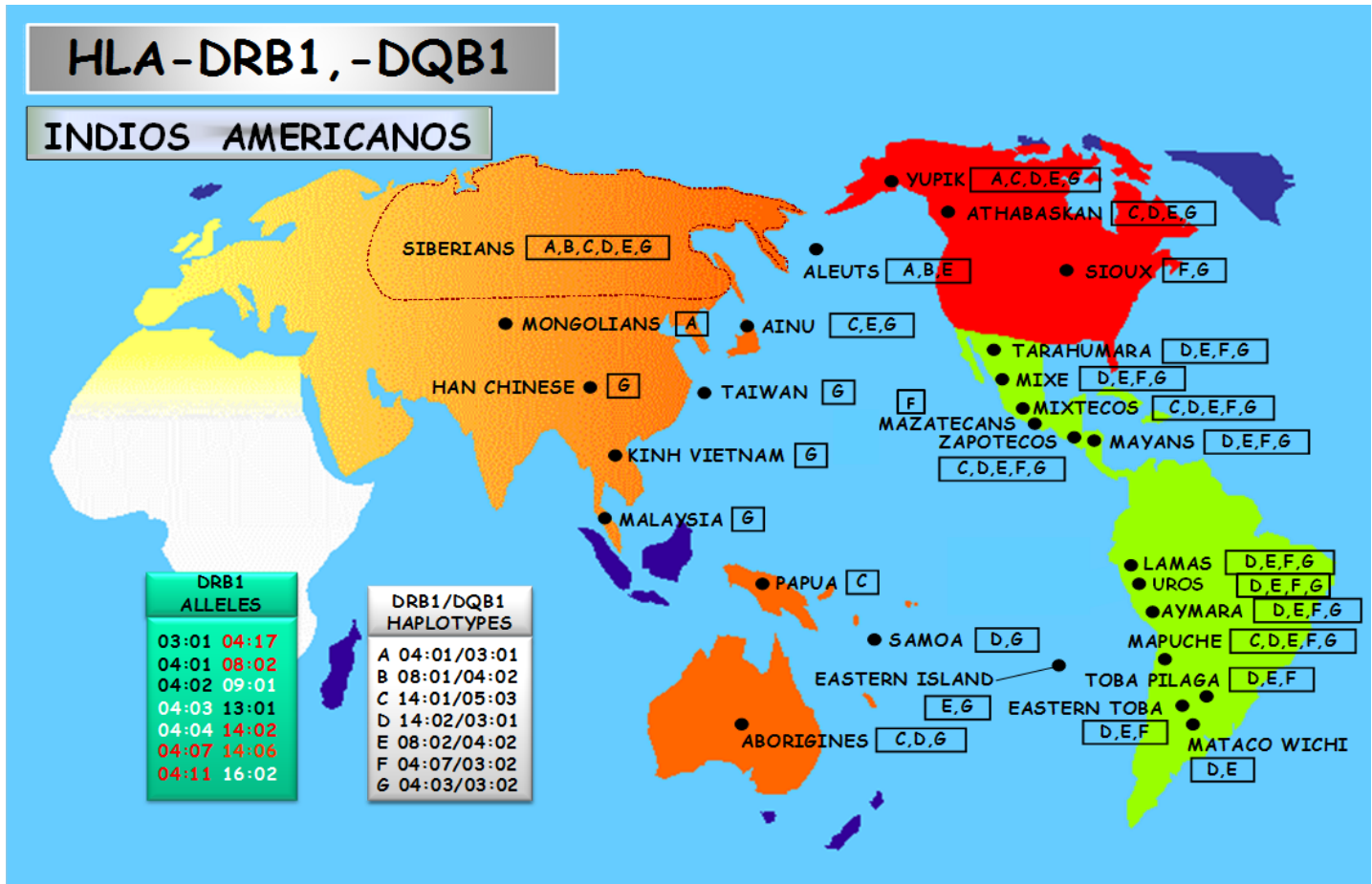
El cuarto haplotipo extendido más frecuente **A*0201-B*4002-DRB1*1402-DQB1*0301**, que representa el 1% de todos los haplotipos, fue hallado previamente en amerindios Tarahumara

mejicanos [García-Ortiz JE et al., 2006]. En resumen, en las poblaciones en nuestra muestra, la mayoría de sus haplotipos extendidos son de origen amerindio o bien hallados recientemente, portando alelos HLA típicamente amerindios.

Un estudio reciente de grupos étnicos de las islas del Pacífico y los primeros habitantes de América, investiga su posible relación, utilizando marcadores genéticos: los alelos HLA. Analiza las líneas alélicas "quasi" específicas amerindias HLA clase II (DRB1 y DQB1) y haplotipos específicos HLA clase II utilizando secuenciación del ADN (Fig. 21). Investiga diferentes grupos amerindios (Mayas, Mixe, Mixtecos, Zapotecanos, Lakota Sioux, Mazatecos, Lamas, Quechuas, Aymaras, Uros, Tarahumaras, Mapuches, Toba Pilaga, Mataco Wichi y Toba oriental), ya estudiados por diferentes investigadores. Compara las frecuencias alélicas HLA amerindias con las de otros nativos americanos primitivos (Na-Dené, esquimales y Aleutianos) y también con poblaciones de Asia y del Pacífico, con programas informáticos, para estudiar la posible relación con pueblos más probablemente candidatos de ser los ancestros de los primitivos pobladores de América. Utiliza 8.014 cromosomas procedentes de muestras de 47 poblaciones diferentes en varias localizaciones geográficas [Arnaiz-Villena et al., 2014].

En la figura 20 se representan solamente las etnias y datos HLA de los amerindios de Centro y Suramérica (según Arnaiz-Villena et al., 2014) (Fig. 21).

Fig. 21. HLA EN AMERINDIOS. ALELOS DRB1 y HAPLOTIPOS DRB1/DQB1



Respecto a las diversas poblaciones amerindias estudiadas, los datos obtenidos son (Fig. 21):

Los alelos HLA-DRB1***04:03**, -DRB1***04:04**, -DRB1***09:01** y -DRB1***16:02** (en blanco) son alelos DRB1 extensamente compartidos con los habitantes de las islas del Pacífico.

Los alelos HLA-DRB1***03:01**, -DRB1***04:01**, -DRB1***04:02** y -DRB1***13:01** (en negro), están presentes en amerindios pero también en otras poblaciones del mundo (*Gonzalez-Galarza et al.*, 2011).

Los alelos HLA-DRB1***04:07**, -DRB1***04:11**, -DRB1***04:17**, -DRB1***08:02**, -DRB1***14:02** y -DRB1***14:06**, (en rojo) están presentes principalmente en amerindios.

El haplotipo DRB1/DQB1 04:07/03:02 (designado fenotipo "F" en la figura) **se encuentra solamente en amerindios, teniendo los amerindios mesoamericanos su frecuencia más elevada.**

El haplotipo DRB1/DQB1 04:03/03:02 (designado fenotipo "G" en la figura) relaciona a los habitantes de las islas del Pacífico con los amerindios, particularmente los amerindios suramericanos, sugiriendo un intercambio genético más antiguo o intenso entre los individuos del Pacífico y los amerindios.

Además, se analizaron parámetros genéticos, basado en genes HLA. Los participantes tenían al menos un alelo amerindio típico [*Arnaiz-Villena et al.*, 2010; *Arnaiz-Villena et al.*, 2014] y al menos tres generaciones de ancestros amerindios puros.

Se determinaron los genes HLA para aseverar más objetivamente el origen amerindio de los participantes y no sólo sugerido por sus rasgos antropométricos. Estos parámetros genéticos, están basados en genes HLA "quasi" específicos de los amerindios, que en estos grupos étnicos son muy diferentes del resto del mundo, incluyendo los españoles [*Arnaiz-Villena et al.*, 2010; *Arnaiz-Villena et al.*, 2014]. Se realizó una metodología de secuenciación indirecta de ADN o directa de ADN en los casos necesarios.

En este último trabajo, se recogen datos de grupos étnicos de las islas del Pacífico y habitantes primitivos de América para investigar los alelos HLA. Al ser éste el sistema genético humano más polimórfico, contabilizando 9.438 alelos, resulta el más útil para comparar la relación entre poblaciones. Se realizó un estudio genealógico y un estudio de comparación de frecuencias, usando alelos HLA y los haplotipos han sido verificados.

Los objetivos eran: 1) determinar las líneas alélicas HLA clase II (DRB1 y DQB1) "quasi" específicas amerindias ("alelos" para simplificar) y haplotipos específicos HLA de clase II usando secuenciación del ADN; es decir, los alelos y haplotipos HLA más frecuentes en amerindios que, no existen o existen en

muy baja frecuencia en otras poblaciones; por ejemplo *comparaciones de genealogía* y 2) comparar las frecuencias de los alelos HLA amerindios con las de otros primeros nativos americanos (Na-Dené, esquimales y aleutianos) y también las de poblaciones Asia y de las islas del océano Pacífico con programas informáticos para estudiar la relación HLA con pueblos con más probabilidad de ser candidatos de los ancestros de los primitivos pueblos americanos; esto podría clarificar el aún poco claro poblamiento de las Américas y el origen de los amerindios, por ejemplo: comparaciones de *grupos de frecuencias de genes* utilizando las frecuencias de alelos y haplotipos de la clase II del sistema HLA.

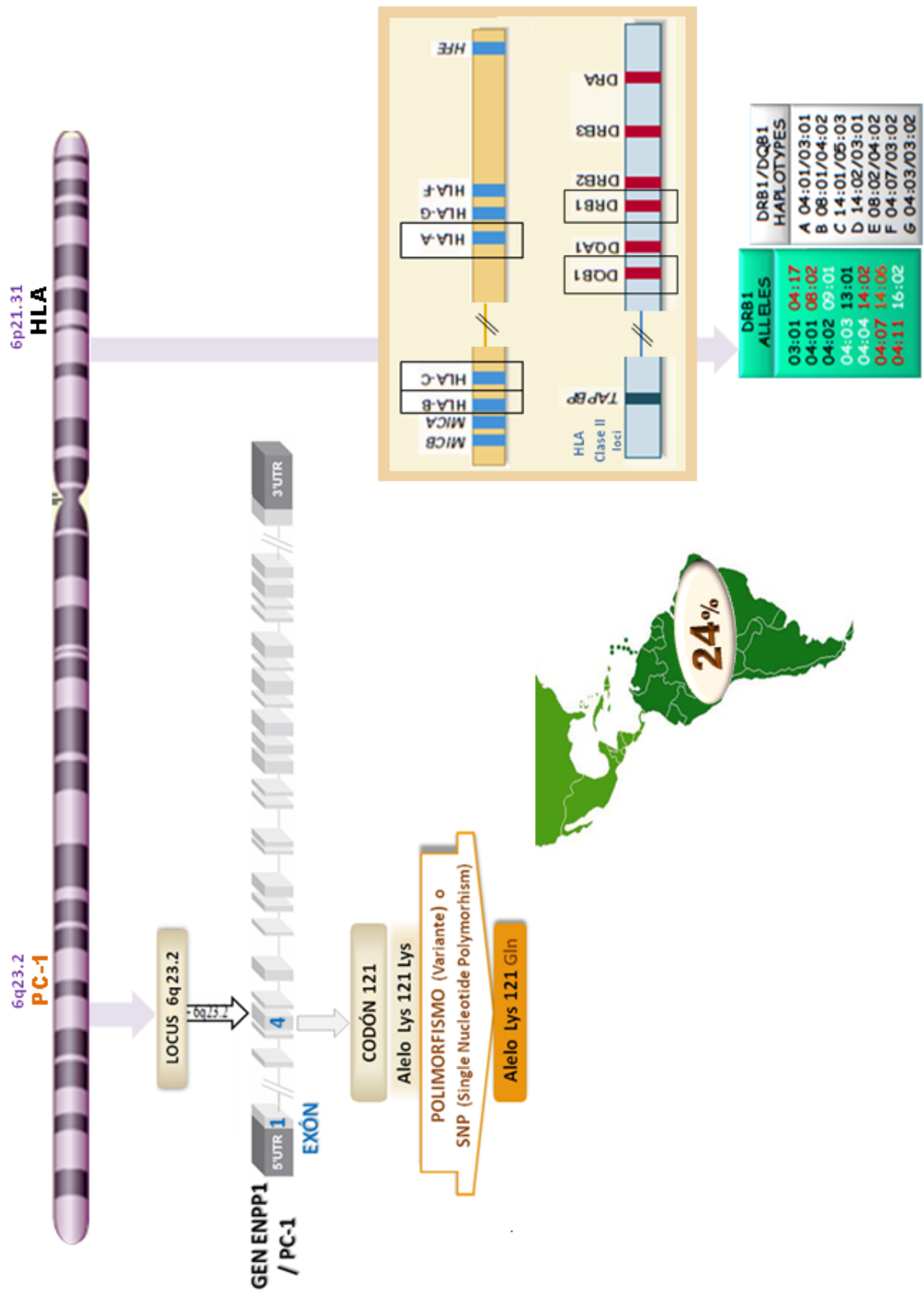
Alelos HLA "quasi" específicos de amerindios, como A*02:12 o B*39:05 [Arnaiz-Villena *et al.*, 2005; Arnaiz-Villena, 2014] se han encontrado en otras poblaciones.

Se resumen los hallazgos referidos al cromosoma 6 obtenidos en nuestra muestra de amerindios (Fig. 22):

- alelo PC-1 Gln121 (24%) de frecuencia
- HLA: Alelos DRB1 y Haplotipos DRB1/DQB1

Fig. 22. CROMOSOMA 6 EN AMERINDIOS. RESUMEN

6q23.2: PC-1 Gln121 (%). 6p21.31: HLA Alelos DRB1 y Haplotipos DRB1/DQB1



DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

5.1 ESTANDARIZACIÓN DEL DIAGNÓSTICO DE OBESIDAD EN AMERINDIOS

5.1.1 ESTADO ANTERIOR A NUESTROS ESTUDIOS

Durante todo el siglo XX, los investigadores observaron la estrecha relación entre la presencia de sobrepeso y obesidad corporal en los individuos con el posible riesgo asociado de desarrollar importantes patologías. Distintos grupos de trabajo en paneles de expertos en sucesivos estudios, plantearon criterios clínicos y bioquímicos para facilitar la identificación de estos pacientes e intentar mejorar su calidad de vida y supervivencia. Para identificar la obesidad se midió la circunferencia o perímetro de la cintura, la ratio cintura-cadera y el índice de masa corporal, que, junto a otros parámetros fue perfilando el concepto de Síndrome Metabólico. El grupo de la International Diabetes Federation [IDF, 2005] y el Panel de la ATPIII [2001], establecen por primera vez que el perímetro de la cintura constituye uno de los cinco integrantes del Síndrome Metabólico e indican un punto de corte a los distintos grupos étnicos, basada en estudios previos, excepto para las poblaciones oriundas de Centro y Suramérica (amerindios), a quienes aplican unos valores teóricos, asimilándolas a poblaciones surasiáticas (China, Malasia, Indo-asiáticos). Persisten ciertas discrepancias respecto a los parámetros bioquímicos y finalmente se establecen unos criterios de consenso para definir la entidad Síndrome Metabólico. Para la obesidad, los valores de perímetro de cintura elevada utilizarán los puntos de corte correspondientes a las definiciones específicas de población y país [Alberti et al., 2009].

Para definir la obesidad en individuos amerindios de Centro y Suramérica, recomiendan los puntos de corte de la IDF o la AHA/NHLB, hasta disponer de datos adecuados, asimilando a los amerindios los valores obtenidos en surasiáticos: hombres ≥ 90 cm., mujeres ≥ 80 cm.). [Alberti et al., 2009].

5.1.2 ESTADO CON NUESTROS ESTUDIOS

Por primera vez se midió la circunferencia o perímetro de la cintura en los amerindios de forma directa a un grupo de hombres y mujeres adultos amerindios inmigrantes a Madrid, no emparentados, sanos y donantes voluntarios de sangre en la Comunidad de Madrid [Arnaiz-Villena et al., 2012]. El objetivo era determinar los puntos de corte específicos de obesidad en los amerindios como había sido descrito [Alberti et al., 2005; Alberti et al., 2009].

Los resultados de la medida del perímetro de la cintura en amerindios sanos obtenida directamente (Tabla 8) son distintos a los empleados anteriormente [Alberti et al., 2005; Alberti et al., 2009]. Los amerindios incluidos en el grupo de obesos, fueron quienes tenían su perímetro de cintura igual o mayor de 88,5 cm. (hombres) e igual o mayor 82,5 cm. (mujeres) según lo establecido en estudio previo, asemejándose más a los valores de surasiáticos que a los japoneses [Arnaiz-Villena et al., 2012].

Tabla 15. OBESIDAD EN AMERINDIOS. Comparación de valores teóricos de perímetro de cintura asimilados a otras poblaciones con nuestros resultados

HIPÓTESIS MEDIDA DE CINTURA EN AMERINDIOS (cm.)		
	OBESIDAD	
	HOMBRES	MUJERES
CHINOS	≥ 90	≥ 80
JAPONESES	≥ 85	≥ 90
SURASIÁTICOS	≥ 90	≥ 80
NUESTROS DATOS	88.5	82.5

Se realizó análisis ROC para mujeres y hombres, de valores de circunferencia de la cintura para valores de colesterol-HDL para identificar el punto de corte óptimo de medida de la cintura para mujeres y hombres. La curva ROC irregular está siguiendo los valores de la circunferencia de la cintura y se obtiene el valor óptimo. Muestra los valores de Sensibilidad y Especificidad óptimos para definir los puntos de corte de circunferencia de la cintura en ambos sexos, que resultó 82.5 cm. en mujeres y 88.5 cm. en hombres. Estos valores resultaron también próximos a los valores medios (82.2 cm. en mujeres y 88 cm. en varones). El Área bajo la curva ROC fue: mujeres 0.62 (IC 0.52-0.72) y hombres 0.66 (IC 0.58-0.74). Los criterios usados para definir los puntos de corte del perímetro de la cintura en cada sexo se escogieron de acuerdo con los valores que mostraban el mejor balance entre sensibilidad (%) y especificidad (%), no inferior a 60%. Permitieron asignar los individuos obesos entre la población total con un buen nivel de exactitud [Arnaiz *et al.*, 2012], según se explicó en Resultados.

5.1.3 AMERINDIOS EN MADRID (HLA)

Para aseverar la certeza del origen amerindio de los individuos del grupo, se estudió el sistema HLA extendido a los haplotipos DRB1/DQB1, para confirmar la presencia de los alelos "quasi" específicos hallados en amerindios [Parga-Lozano *et al.*, 2011; Arnaiz-Villena *et al.*, 2012], como está descrito en Materiales y Métodos.

Los haplotipos extendidos de amerindios han sido obtenidos por primera vez, permitiendo su comparación con los reportados previamente en otras poblaciones (Tabla 14). Los haplotipos extendidos más frecuentes hallados en la población amerindia inmigrante (el 4.9% de los haplotipos totales) son los tres siguientes:

A*0101-B*0801-**DRB1*0301-DQB1*0201**,

A*2402-B*3501-**DRB1*1402-DQB1*0301** y

A*1101-B*3501-**DRB1*0101-DQB1*0501**

La mayoría de los haplotipos extendidos son amerindios; no obstante, no se encontraron haplotipos de alta frecuencia, indicando que no eran grupos étnicos aislados como los Aymaras [Arnaiz-Villena *et al.*, 2005]. Otros haplotipos HLA extendidos no han sido hallados en ninguna otra población y también son presumiblemente amerindios (Tabla 14).

El cuarto haplotipo extendido más frecuente A*0201-B*4002-**DRB1*1402-DQB1*0301**, que representa el 1% de todos los haplotipos, fue hallado previamente en amerindios Tarahumara mejicanos [García-Ortiz JE et al., 2006].

En resumen, en las poblaciones en nuestra muestra, la mayoría de sus haplotipos extendidos son de origen amerindio o bien hallados recientemente, portando alelos HLA típicamente amerindios, lo que permite asegurar la certeza de su pertenencia a la etnia amerindia.

5.1.4 UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE LA OBESIDAD MEDIANTE LA MEDIDA DEL PERÍMETRO DE LA CINTURA

Según los puntos de corte establecidos en nuestra muestra, la obesidad estandarizada en amerindios implica un perímetro de cintura en hombres ≥ 88.5 cm. y en mujeres ≥ 82.5 cm. Esta sencilla técnica, consideramos puede ser de gran utilidad general para amerindios y especialmente para su aplicación a los habitantes en las zonas más aisladas y remotas de los países de Centro y Suramérica, donde el acceso a otros métodos más sofisticados y costosos resultarían de difícil aplicación para muchos individuos de sus diversas etnias. (Amazonía, aldeas indígenas aisladas, etc.)

5.2 GENES DE OBESIDAD Y SÍNDROME METABÓLICO

5.2.1 LA POSIBLE HISTORIA DE LOS GENES “AHORRADORES”

La obesidad, es un componente fundamental e independiente en el desarrollo del SM (obesidad visceral, presión arterial elevada, triglicéridos elevados, colesterol-HDL bajo e hiperglucemia en ayunas [Alberti et al., 2005; 2009]. La obesidad, aumentando en todo el mundo, incrementa la morbilidad (por las patologías asociadas) y la mortalidad indirecta [WHO 2014; Alberti et al., 2005; Cameron et al., 2009]. En países industrializados y en los emergentes que adoptan sus hábitos dietético-culturales de sobrealimentación y sedentarismo -Latinoamérica, Oriente medio, islas del Pacífico, África- hay obesidad epidémica: “globesidad” (“globesity”) [WHO, 2008; James, 2008]. Causa gran repercusión socioeconómica, incremento del gasto sanitario y distribución desigual de la carga de enfermedad según la renta per cápita del país y es un importante problema de salud mundial [James, 2008].

Se conoce la asociación de la obesidad tanto a genes como a factores ambientales, sin acuerdo entre los investigadores sobre la importancia relativa de cada gen y sobre la importancia relativa gen/ambiente en cada caso. Nuestros ancestros, con circunstancias vitales muy distintas a las actuales, portaban un genoma que, al evolucionar en miles de años con sus múltiples influencias (depredadores, escasez de alimentos, cambios climáticos, migraciones, etc.) ha llegado hasta hoy. Diversas hipótesis intentan explicar su repercusión en el actual genoma humano y la causa de la epidemia de obesidad mundial.

5.2.2 PASO DE POBLACIONES RURALES A URBANAS (ALIMENTACIÓN MÁS SEDENTARISMO)

La hipótesis más aceptada de los genes “ahorradores” ha determinado que algunos genes se han fijado a nuestro genoma durante cientos de años para prevenir hambre, frío y calamidades que

dificultan la alimentación: hipótesis de "thrifty gene" [Neel, 1962; Neel 1999]. La obesidad, sería un recuerdo genético de nuestros antepasados que **sufrieron selección positiva de genes que favorecen el almacenamiento corporal de energía**, por episodios cíclicos de hambruna/excedente alimenticio, tras el surgimiento de la agricultura hace 10.000 años y el cambio de una sociedad de individuos cazadores-recolectores con mucha ingesta de proteínas de carne a otra basada en el sedentarismo, la agricultura y crianza y consumo de animales domésticos. Hoy día, se asocian: la dieta occidental actual (abundante/excesiva, de fácil acceso, con composición nutritiva más elaborada, con más grasa, sal y azúcares refinados) con el aumento del sedentarismo (frente al ejercicio, vital en nuestros ancestros para defenderse y obtener alimentos). Aquella "**ventaja adaptativa genética**", que almacenaba energía y mejoraba supervivencia y fecundidad, causa hoy a quienes heredan esos genes, depósito de grasa excesivo en su organismo resultando en la obesidad pandémica actual. Speakman hipotetiza que, los genes ahorradores prevalecen hoy pero que ello es atribuible a la **deriva genética de eliminar la presión selectiva depredadora**: hipótesis del genotipo fluctuante ("drifty gene") [Speakman 2007; 2008]. Los genes que nos predisponen a la obesidad, la mayoría de sus mutaciones serían inactivas y habrían variado en la evolución, haciendo a unos individuos propensos y a otros resistentes a la obesidad [Speakman, 2013].

Otros autores han analizado los antecedentes evolutivos de la obesidad epidémica desde un punto de vista diferente [Pijl, 2011]. Un **cambio climático** hace 2 millones de años motivó desplazamientos demográficos de nuestros ancestros, con consecuencias: cambiaron entorno y dieta con el aporte de carne y pescado, que favoreció el desarrollo del cerebro y capacidades cognitivas que, aplicadas a una mejor defensa, permitió elaborar herramientas; surgió la agricultura y crianza de animales domésticos, cediendo la presión depredadora. **Mutaciones al azar**, se distribuyeron por fluctuación genética entre los genes humanos. Hoy, portadores de esos genes ahorradores, carentes de protección genética contra la ganancia de peso, serían propensos a la obesidad.

Recientemente se ofrece una teoría adicional sobre el origen evolutivo de la obesidad [Sellayah et al., 2014]. La diferente susceptibilidad a la obesidad entre etnias, se debería a la distinta exposición de sus ancestros a "**factores ambientales de selección, relativos a la exposición al clima**" iniciados cuando los modernos humanos abandonaron África hace 70.000 años, migraron a través del mundo, asentándose en zonas con temperatura diferentes y alcanzando América hace unos 20.000 años.

- Quienes desde el postulado del primer ancestro africano que emigró a las regiones más frías (Europa y Siberia), **adquirieron genes de adaptación al frío (genes de la termogénesis)**, con una función eficiente del tejido adiposo marrón y la proteína desacoplante 1, y como subproducto útil: una tasa metabólica más alta y resistencia a la obesidad.

- En africanos y surasiáticos (cuyos ancestros no precisaron cambiar la funcionalidad del tejido adiposo marrón y la proteína desacoplante 1) resultó una **propensión elevada a la obesidad**, al combinarse con el sedentarismo y el estilo de vida hipercalórico occidental.

- Descendientes de quienes permanecieron en África y migraron a ambientes tropicales o subtropicales (negros americanos y habitantes de islas del Pacífico) **mantuvieron genes de adaptación al calor**.

5.2.3 HERENCIA POLIGÉNICA DE OBESIDAD

Además, circunstancias no impresas en nuestros genes, son factores coadyuvantes, que pueden influir para desarrollar obesidad (no realizar ejercicio, el tipo de alimentación habitual, la sobrealimentación, etc.). En la obesidad humana, sólo menos del 5% de los casos, es monogénica (causada por un único gen) [Beales *et al.*, 2009]. En la mayoría, hay **predisposición genética de tipo poligénico**, asociada a **factores ambientales** [Bouchard *et al.*, 2004]; la evidencia de la contribución genética procede de modelos epidemiológicos. La "globesidad" ("globesity") actual [WHO, 2008; James, 2008] ocurre mayoritariamente por **conductas favorecedoras de alelos predisponentes** existentes en muchos genes.

Uno de los genes que se ha mostrado induce Síndrome Metabólico o enfermedades relacionadas ha sido el alelo PC-1 Gln121. Actualmente, existe evidencia cierta de que el gen PC-1 está asociado a SM/obesidad [McAteer *et al.*, 2008; Wan *et al.*, 2006]. Estudios del alelo PC-1 Gln121 en poblaciones urbanas heterogéneas no relacionadas pueden haber enmascarado resultados positivos de esta asociación por existir una predisposición (comparativamente baja) del poder del polimorfismo PC-1 entre otros genes predisponentes y la heterogeneidad genética de los individuos analizados [Keshavarz *et al.*, 2006; Weedon *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2011]. Analizar individuos con un trasfondo genético más similar puede resultar útil, aunque precisa saber cuáles de los genes de obesidad son los más importantes en la predisposición a ella en esa población. Diferentes grupos étnicos pueden tener diferentes genes o alelos de susceptibilidad, como ocurre con otras patologías, por ejemplo, la espondilitis anquilosante y HLA-B27 en el que diferentes etnias tienen diferentes subtipos de HLA-B27 como predisponente a la obesidad [Khan, 1995].

5.2.4 GENÉTICA DE OBESIDAD

Además del gen PC-1 en el que hemos centrado nuestro estudio, también hemos estudiado en la misma población los genes de adiponectina [Arnaiz-Villena *et al.*, 2013b] y PPRγ [Arnaiz-Villena *et al.*, 2013a].

5.2.4.1 El Gen de la ADIPONECTINA (ADIPOQ o APM1), se localiza en el cromosoma 3q27 [Takahashi M *et al.*, 2000]. Se han reportado varios polimorfismos de nucleótido único (SNPs). La hormona adiponectina, también llamada Acrp30 (Adipocyte complement related protein of 30 kDa), se sintetiza principalmente por el tejido adiposo blanco y en menor cantidad por el marrón. Se encuentra en el plasma circulante y en muchos otros tejidos (músculo, glándulas salivares, miocardio, placenta, hígado y colon). Su concentración plasmática es inversamente proporcional a la obesidad abdominal. Actúa sobre el sistema nervioso modulando la ingesta de alimento y la liberación de energía.

Nuestras conclusiones del gen de ADIPONECTINA son [Arnaiz-Villena et al., 2013b]:

Los polimorfismos (Single Nucleotide Polimorfisms) SNP45 y SNP276 han sido asociados al Síndrome Metabólico (SM) y patologías relacionadas, incluyendo la obesidad. No obstante, los resultados de asociación son contradictorios dependiendo de la población estudiada. En nuestro trabajo, se estudia por primera vez en amerindios los polimorfismos de la adiponectina. Se obtienen las frecuencias alélicas y se realiza una comparación con la obesidad y otros parámetros del SM. Los amerindios fueron definidos también por sus genes HLA característicos.

Nuestros principales resultados en amerindios fueron los siguientes:

- 1 El alelo SNP276 T (un cambio de G por T en la posición 276 del intrón 2 del ADN) está asociado a presión arterial diastólica baja,
- 2 el alelo SNP45 G (un cambio de T por G en la posición 45 en el exón 2 del ADN) está CORRELACIONADO con la OBESIDAD EN MUJERES AMERINDIAS, pero no en los hombres,
- 3 el haplotipo SNP45/SNP276 T/G en los individuos totales obesos / no obesos tiende a mostrar una LIGAZÓN con los INDIVIDUOS AMERINDIOS NO OBESOS,
- 4 el haplotipo SNP45/SNP276 T/T está ligado a los HOMBRES AMERINDIOS OBESOS.

También se realizó un estudio de poblaciones mundial, encontrando que los alelos SNP45 T y SNP276 T son los más frecuentes en los negros africanos y se encuentran frecuencias significativamente más bajas en europeos y asiáticos. Estos datos junto con el hecho de que hay una ligazón de este haplotipo a los hombres amerindios obesos sugieren que fuerzas evolutivas relacionadas a la hambruna (o a la densidad de población en relación con la disponibilidad de alimento) puedan haber dibujado las frecuencias del polimorfismo de la adiponectina en la población mundial.

5.2.4.2 Genes de la FAMILIA DE LOS PPAR γ (PPARG) o receptores activados por proliferadores de peroxisomas – (PPARs) (3p25). Son receptores nucleares de la familia de factores de transcripción activados por ligandos, que regulan la expresión de genes implicados en el metabolismo de la glucosa y lípidos. Tres subtipos PPAR α , β , γ se expresan en los tejidos. Los receptores PPAR γ , predominantemente en el tejido adiposo, con ligandos específicos para cada isoforma; son importantes en la diferenciación de los adipocitos y en expresión de diversos genes. La isoforma PPAR γ -1 se expresa en tejido adiposo, músculo esquelético, corazón e hígado, y PPAR γ -2, casi exclusivamente en tejido adiposo. Existen resultados discordantes en estudios epidemiológicos.

Nuestras conclusiones del gen PPAR son [Arnaiz-Villena et al., 2013a]:

La obesidad es para muchos expertos el punto de partida inicial que lleva al Síndrome Metabólico (SM) y diabetes tipo 2 (DT2). En este trabajo, una población homogénea de amerindios, definida por sus genes HLA, se ha genotipado para uno de los genes predisponentes a SM y DT2: las variantes PPAR- γ Ala12 y PPAR- γ Pro 12.

La PPAR- γ Ala12 ha sido asociada negativamente con la obesidad, pero otros autores no la encuentran. No obstante, un metaanálisis utilizando muchos individuos demostró claramente que PPAR- γ Ala12 que portaban algunos individuos, tenía un riesgo reducido de desarrollar DT2. Nuestros resultados muestran que los amerindios no tienen asociación de PPAR- γ 2 Ala12 y obesidad; la obesidad se cuantificó mediante valores de circunferencia de la cintura después de utilizar los de cintura específica normal en amerindios.

También, un estudio genético de poblaciones indica que el alelo PPAR- γ Pro12 fue el alelo salvaje, el cual debe haber ocurrido antes que los humanos modernos abandonaran África. El alelo PPAR- γ Ala12 puede haber aparecido más tarde en caucasoides, según nuestras comparaciones. Los individuos negroides tienden a mostrar frecuencias bajas o nulas de alelo PPAR- γ Ala12, mientras que en la mayoría de las poblaciones su frecuencia es significativa, particularmente los europeos caucasoides. Esto puede sugerir que la aparición del alelo PPAR- γ Ala12 ocurrió después de que las poblaciones se adaptaran a una alimentación basada en la agricultura.

5.2.4.3 OTROS GENES PREDISPONENTES DE OBESIDAD

El grado de intervención de los distintos genes en obesidad es discutido y está por determinar, pero se han descrito además los siguientes genes que predisponen a obesidad [Gonzalez-Sanchez, 2003a; Vimalaswaran *et al.*, 2012] (Tabla 6):

Gen de la hormona LEPTINA (LEP) (7q31.3). Liberada por el adipocito a la circulación regula el apetito. En el cerebro, receptores de leptina, son informados del nivel de reservas grasas del organismo, modificando el comportamiento alimentario -suprimiendo el apetito- e incrementando la actividad metabólica; aumenta el nivel plasmático en individuos con obesidad, RI y dislipidemias. No se ha demostrado que mutación en la molécula de leptina o su receptor causen obesidad humana, salvo muy raros casos de obesidad familiar infantil con hipogonadismo.

La Familia de PROTEÍNAS DESACOPLANTES (REGULADORAS) de la TERMOGÉNESIS (Uncoupled Proteins-UCPS): UCP1, UCP2, UCP3. Localizadas en la membrana interna mitocondrial son fundamentales en la regulación de la termogénesis. Se expresan preferentemente en determinados tejidos: UCP1, solo en el tejido adiposo marrón, UCP2 en varios tejidos, incluido el tejido adiposo y UCP3 en el músculo esquelético. El gen de la UCP1 se localiza en 4q28-q31.

Genes ADRENORECEPTORES. Familia de proteínas catecolamina-sensibles (β_3 , β_2). Estimulan la lipólisis en la grasa visceral. Son:

► Gen del RECEPTOR β_3 -ADRENÉRGICO (ADRB3) (8p12-p11.2). En humanos se expresa en la grasa visceral. El polimorfismo (Trp64Arg) se ha asociado con obesidad visceral y otras alteraciones del SM, no confirmado por otros autores, pero persiste como gen candidato en obesos.

► Gen del RECEPTOR β_2 -ADRENÉRGICO (ADRB2) (5p31-q32). El polimorfismo Gln27Glu, postulado probable candidato en la obesidad humana común. Con estudios discrepantes en diversas etnias, quizá sea importante en el fenotipo de algunas alteraciones del SM, como obesidad y DM2.

Gen del FACTOR DE NECROSIS TUMORAL α (TNF) (6p21.3). Es una citoquina mediador en la respuesta inflamatoria en adipocitos normales y músculo esquelético en no obesos. Se sobreexpresa en el tejido adiposo de obesos. El polimorfismo -308 G/A en la región del promotor del gen se ha asociado a obesidad y a RI. Es probable pero no demostrado su papel como gen candidato en el genotipo de obesidad y SM, con estudios discordantes.

Otros genes relacionados con la obesidad que controlan la expresión de péptidos implicados en la ingesta y otros relacionados con mecanismos del apetito-saciedad en el sistema nervioso central, no están bien estudiados. Son componentes orexigénicos, NEUROPEPTIDO Y (NPY) y otros relacionados con la proteína Agouti. Existen pocos datos disponibles en humanos.

Gen de la hormona RESISTINA (19p13). Expresada y segregada específicamente por el tejido adiposo, postulada como nexo entre obesidad y DT2. Su secreción está regulada por los antidiabéticos orales, ligandos específicos de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR γ). Existen pocos datos en humanos.

Gen del SUSTRATO DEL RECEPTOR DE INSULINA (IRS-1) (2q36). Familia de proteínas que unen la fosforilación de la subunidad- β del receptor de insulina activado con una cascada de señales, conducentes a múltiples efectos metabólicos y no metabólicos de la insulina. Se ha identificado el polimorfismo Gly972Arg.

Gen de la GLUCÓGENO SINTASA (detectados varios polimorfismos). Es importante en la síntesis de glucógeno. Pacientes con DT2 y parientes no diabéticos de sujetos con RI, muestran un depósito anómalo de glucosa (glucógeno) en el músculo esquelético, con datos contradictorios.

Gen de la LIPOPROTEÍNA LIPASA (LPL). Una enzima lipolítica del endotelio capilar de músculo y tejido adiposo. Mutaciones en la región del gen promotor y polimorfismo Asn291Ser se ha asociado con triglicéridos elevados, colesterol-HDL bajo y mayor riesgo cardiovascular.

El gen FABP2 (FABP2), codifica para la proteína intestinal de unión a ácidos grasos (IFABP), expresada específicamente en células epiteliales de intestino delgado. La proteína IFBAP se une con alta afinidad a ácidos grasos saturados e insaturados de cadena larga, participando en la absorción y transporte intracelular de los ácidos grasos. Defectos del gen afectarían la capacidad de unión de la proteína, aumentando la absorción/oxidación de ácidos grasos. El polimorfismo Ala54Thr se asocia con más oxidación de ácidos grasos y RI en algunas etnias pero no parece asociarse con RI ni DT2 en poblaciones Caucásicas.

5.3 NIVELES BAJOS DE COLESTEROL SE ENCUENTRAN ASOCIADOS CON EL ALELO LYS121, NO PREDISPONENTE DE SÍNDROME METABÓLICO

Al analizar todas las muestras de amerindios estudiadas, se encontró **asociación entre los niveles más bajos de colesterol-HDL y el alelo PC-1 Lys121** (no predisponente de SM) (Tabla 10). Es decir, se detecta una asociación aparentemente discordante: factor de riesgo bioquímico (colesterol HDL bajo) -alelo PC-1 Lys de NO riesgo

Se plantea el interrogante de si los niveles más altos de colesterol-HDL, en amerindios con predisposición a padecer el SM, les protegen del mismo al portar el alelo Gln121, supuesto alelo de riesgo de padecerlo. Esta es una hipótesis que se propone para explicar el hallazgo.

Se ha mostrado que el colesterol-HDL ejerce por sí mismo efecto anti-obesidad y de sensibilización a la insulina [von Eckardstein & Sibbler, 2011]. Los tratamientos administrados para prevenir enfermedades cardiovasculares tienden a incrementar algo los niveles de colesterol-HDL [Flock et al., 2011]. Quizá el colesterol-HDL podría neutralizar la aterogénesis, resistencia a la insulina, Síndrome Metabólico y enfermedad cardiovascular, en los complejos enlaces de retroalimentación en el metabolismo graso y el depósito arterial. Estos hallazgos pueden ser importantes para establecer programas predictivos y preventivos sobre el Síndrome Metabólico y sus complicaciones en amerindios emigrados y autóctonos. No obstante, esta asociación debería ser confirmada en una muestra más amplia, como ya hemos dicho.

5.4 EL ALELO PC-1 Gln-121, DE RIESGO DE SÍNDROME METABÓLICO, EN DIFERENTES POBLACIONES DEL MUNDO

El alelo variante PC-1 Gln121, puede considerarse un gen ahorrador, según el concepto definido por Neel [Neel, 1962]. Este gen ha existido desde hace mucho tiempo en la evolución, habiéndose encontrado en peces, anfibios, mamíferos y chimpancés (*Pan troglodites*) [Chimpanzee sequencing and analysis consortium, 2005]. Sin embargo, el alelo PC-1 Lys121 parece ser de reciente adquisición en humanos. La frecuencia del gen PC-1 Gln121 en distintas poblaciones del mundo en que se ha documentado, junto con los amerindios por primera vez, se muestra en la Tabla 12.

La frecuencia del alelo de susceptibilidad a la obesidad PC-1 Gln121, hallada en otras poblaciones del mundo en diferentes estudios, se comparó con la frecuencia obtenida en el estudio. Las poblaciones comparadas son: **ORIENTALES** (chinos Han [Wan et al., 2006], coreanos [Seo et al., 2008], japoneses [Keshavarz et al., 2008]), **CAUCASOIDES** (alemanes [Gouni-Berthold et al., 2006], daneses [Grarup et al., 2006], británicos [Weedon et al., 2006], españoles [Gonzalez-Sanchez et al., 2003], sicilianos [Pizzutti et al., 1999], **AMERINDIOS** (el presente estudio, grupo de Arnaiz-Villena [Arnaiz-Villena et al., 2012]), **CAUCASOIDES NORTEAFRICANOS** (marroquíes [El Achab et al., 2009], **NEGROIDES AFRICANO AMERICANOS** (Nueva York) [Matsuoka et al., 2006].

Los chinos Han (93% de la población china) [Gonem, 1996] de Pekín portan la frecuencia más baja del alelo PC-1 Gln121 (7.5%). Este valor relativamente bajo puede ser debido a un efecto fundador o a la selección inducida por la historia alimentaria. Los primeros homínidos y humanos portaban este gen, quizá porque ya estaba presente en el chimpancé. Las frecuencias alélicas pueden también haber variado en diferentes coordenadas geográficas del mundo por deriva genética ("genética "drift"), aunque parece improbable, pues el porcentaje de las frecuencias de PC-1 Gln121 es muy distinto entre negroides y orientales.

La variación en los hábitos dietéticos puede haber causado diferentes frecuencias de PC-1 Gln121 en la población. **China** es uno de los estados más estables durante milenios, permaneciendo desde su unificación en su mayoría como era hasta ahora, excepto la meseta tibetana y algunas otras pequeñas partes (por guerras y colonizada por europeos hasta hace poco) [Berghorn & Hattstein, 2007]. **Corea** fue poblada inicialmente por individuos procedentes del continente asiático (hoy día China) [Gonem, 1996]. **Japón** tiene una de las poblaciones más homogéneas en el mundo, excepto en el norte, donde los japoneses Ainu comparten características con grupos étnicos del extremo norte (siberianos del norte, alaskenses) [Gonem, 1996]. **Las poblaciones negroides** (Tabla 13), capturadas como esclavas en África (siglo XV en adelante) y llevadas a América [Gonem, 1996], han tenido condiciones de vida muy duras hasta hace poco, probablemente incluyendo frecuentes hambrunas [Gonem, 1996]. No obstante, quizá la frecuencia del alelo PC-1 Gln121 africano se estableciera en esta población antes de abandonar África, hipótesis basada en el hallazgo del gen PC-1 Gln121 en chimpancés, se supone transmitido a los humanos en África [Chimpanzee sequencing and analysis consortium, 2005; Berghorn & Hattstein, 2007], aunque para confirmar esta hipótesis son necesarios estudios adicionales en africanos y también en no humanos.

Del análisis comparativo de las frecuencias del alelo PC-1 121Gln en las distintas poblaciones referidas en la literatura y la obtenida en nuestro estudio (Tabla 13) se observa un gradiente de dichas frecuencias, de menor a mayor, originado en orientales (Chinos Han, 7.5%) a un máximo en negroides (74.6%) y un valor medio detectado en nuestra muestra de amerindios (24%) que, por su distribución geográfica puede ser valorada como un gradiente de frecuencias creciente geográficamente de norte a sur en el Viejo Mundo (Tabla 13 y Fig. 20).

Los amerindios pueden ser comparados por primera vez en la frecuencia del alelo PC-1 Gln121 con otras poblaciones del mundo en este estudio. Muestran frecuencia intermedia entre los orientales (más baja) y los negroides africanos (más alta). Las fuerzas selectivas sobre amerindios deben haber sido intensas, pues unos 80 millones de amerindios murieron después del primer contacto con los europeos en 1492 (descubrimiento de América) sólo en 100 años debido a enfermedades y guerras [Dobbin, 1993].

La falta de alimentación apropiada que causaría frecuencia elevada el alelo PC-1 Gln121, resulta una hipótesis viable. No obstante, parece detectarse un gradiente de incremento en las frecuencias (Tabla 14) con distribución geográfica en el Viejo Mundo de norte a sur (si los africanos tenían su

frecuencia de alelo fijada antes de alcanzar América). Esta observación, puede reflejar un efecto fundador más antiguo debido a la población del mundo por el *Homo sapiens* procedente de África. El cambio de una sociedad de cazadores-recolectores a otra basada en la agricultura debe haber reducido la necesidad del gen ahorrador PC-1 Gln121 y su frecuencia, como se observa actualmente (Tabla 14). La mayoría de los amerindios del estudio proceden del área andina por encima de Ecuador [Arnaiz-Villena *et al.*, 2010].

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

En nuestra muestra de población amerindia:

- 1 Las MEDIDAS DE CIRCUNFERENCIA DE LA CINTURA por las que mujeres y hombres y amerindios adultos son diagnosticados de OBESIDAD ABDOMINAL son: ≥ 82.5 cm. en la mujer y ≥ 88.5 cm. en el hombre. Estos datos se aproximan más a los obtenidos en surasiáticos.
- 2 En contra de lo que se había establecido, EL PORCENTAJE DE AMERINDIOS OBESOS es 53.12% en las mujeres y 55.14% en los hombres.
- 3 El alelo PC-1 Lisina121 de no predisposición a obesidad, ESTÁ ASOCIADO EN AMERINDIOS A NIVELES BAJOS DE COLESTEROL-HDL, lo que sugiere que altos niveles de colesterol-HDL podrían proteger de obesidad y Síndrome Metabólico a los amerindios con el alelo de predisposición a obesidad PC-1 Glutamina 121.
- 4 El alelo PC-1 Glutamina 121, factor de riesgo de obesidad comprobado en metaanálisis de grandes series en caucasoides y orientales, NO ES FACTOR DE RIESGO EN NUESTRA MUESTRA.
- 5 EL PORCENTAJE DE FRECUENCIAS DEL ALELO DE SUSCEPTIBILIDAD PC-1 Gln 121 EN AMERINDIOS (24%) es superior a caucasoides (media 13%), intermedia entre sicilianos (17.8%) y caucasoides norteafricanos (37.3%) y distinto significativamente de chinos Han (7,5%) y negroides africanos (74.6%).
- 6 El gen "ahorrador" PC-1 Glutamina 121 tiene una diferencia significativa de frecuencias en distintas poblaciones que puede estar relacionada con su ancestral existencia ya en primates, en contraste con PC-1 Lisina 121 y con la historia alimentaria de las poblaciones.
- 7 Sus haplotipos HLA extendidos han sido obtenidos por primera vez, pudiendo ser comparados con los reportados previamente en otras poblaciones. Los más frecuentes: hallados han sido: A*0101-B*0801-DRB1*0301-DQB1*0201, A*2402-B*3501-DRB1*1402-DQB1*0301 y A*1101-B*3501-DRB1*0101-DQB1*0501 (eran el 4.9% de los haplotipos totales). El cuarto (1% de todos los más frecuentes) A*0201-B*4002-DRB1*1402-DQB1*0301 fue hallado previamente en amerindios Tarahumara mejicanos.

En nuestra muestra, la mayoría de sus haplotipos extendidos son de origen amerindio o bien hallados recientemente, portando alelos HLA típicamente amerindios.

ANEXOS

DONANTE APTO ☐
DONANTE EXCLUIDO ☐

CAUSA DE LA EXCLUSIÓN:

PEGAR AQUÍ
Nº DE DONACIÓN

PULSO _____
T. A. _____
Hb _____
PESO _____

La Donación de sangre es un acto seguro. Para garantizarlo deberemos realizar una pequeña encuesta, exploración física al donante (tensión, pulso, y hemoglobina) y una serie de determinaciones analíticas (marcadores de Hepatitis B, Hepatitis C, SIDA, Sífilis, y Grupo Sanguíneo). En determinadas circunstancias una persona puede ser infectiva y no tener todavía marcadores. Por eso le rogamos conteste verazmente a la encuesta, para evitar riesgos en su salud y en la del receptor de su sangre.

En cualquier momento del proceso usted puede solicitar que se termine y que no se utilice su sangre (autoexclusión). Una vez completada su donación, se remitirá al Centro de Transfusión de Madrid donde se analizará, se fraccionará (para obtener glóbulos rojos, plasma y plaquetas) y estará custodiada hasta que se distribuya a los Hospitales de la Comunidad de Madrid.

Todos Los datos facilitados por usted serán recogidos en un Fichero Automatizado cuyo responsable es el Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid. El interesado podrá ejercer sus derechos de acuerdo con la L. O. 15/99 y la Ley 8/2001, de 13 de Julio, sobre la protección de datos de carácter personal en la Comunidad de Madrid, mediante solicitud escrita y firmada al responsable del fichero.

Desde el Centro de Transfusión se le informará tanto si la analítica es normal como si se hubieran detectado marcadores que afecten su salud. Este último caso supondría la destrucción de la bolsa donada y su exclusión temporal o definitiva como donante.

NO SE PUEDE DONAR SANGRE EN LAS SIGUIENTES SITUACIONES

- PADECER SIDA O TENER POSITIVOS LOS ANTICUERPOS DEL SIDA (SER SEROPOSITIVO)
- REALIZAR PRÁCTICAS SEXUALES CON MÚLTIPLES PAREJAS
- ANTECEDENTES DE USAR DROGAS INTRAVENOSAS O INTRAMUSCULARES
- PADECER HEMOFILIA
- PROVENIR DE ÁREAS ENDÉMICAS DEL PALUDISMO (PERMITIDO TRAS 3 AÑOS DE RESIDENCIA EN LA UNIÓN EUROPEA) O SIDA (PERMITIDO TRAS UN AÑO DE RESIDENCIA EN LA UNIÓN EUROPEA)
- NO ESTAR ADECUADAMENTE IDENTIFICADO (DNI, PASAPORTE, TARJETA DE RESIDENCIA)

1^{er} Apellido

2^o Apellido

Nombre Sexo ☐ M ☐ F

Identificación: DNI / Pasaporte / T. Residencia

Fecha de nacimiento Provincia nacimiento

País de origen

Dirección

Código Postal Población

Provincia Teléfono

Nº Donante Teléfono móvil

POR FAVOR LEA ATENTAMENTE Y SEÑALE SÍ O NO A CADA PREGUNTA

- | | | |
|--|----|----|
| 1.- ¿Su edad esta comprendida entre los 18 y los 65 años? | Sí | No |
| 2.- ¿Disfruta usted de buena salud? | Sí | No |
| 3.- ¿Ha donado usted sangre alguna vez? | Sí | No |
| 4.- ¿Padece usted o ha padecido alguna enfermedad importante? | Sí | No |
| 5.- ¿Ha donado sangre en la últimos dos meses? | Sí | No |
| 6.- ¿Ha donado más de tres veces en los últimos doce meses? | Sí | No |
| 7.- ¿Ha sido rechazado alguna vez como donante? | Sí | No |
| 8.- ¿Ha tenido usted prácticas de riesgo para la transmisión del SIDA? | Sí | No |
| (Relaciones sexuales con múltiples parejas, relaciones sexuales con prostitutas/os,
uso de drogas intravenosas, intercambio de maquinillas de afeitar, cepillos de dientes) | | |
| 9.- ¿Se ha vacunado recientemente? | Sí | No |
| 10.- ¿Se ha realizado algún tratamiento dental en los últimos tres días? | Sí | No |
| 11.- ¿Toma alguna medicación? ¿Ha tomado ASPIRINA o derivados en los últimos cinco días? | Sí | No |
| 12.- ¿Ha tomado alguna vez alguno de estos medicamentos? PROSCAR, PROPECIA; ROACUTAN, TIGASON..... | Sí | No |
| 13.- ¿Ha tenido fiebre (>38° C), diarrea, o alguna otra infección en los últimos quince días? | Sí | No |
| 14.- ¿Ha sido hospitalizado, operado de algo o le han realizado una endoscopia en los últimos cuatro meses? .. | Sí | No |
| 15.- ¿Ha convivido con un enfermo de SIDA-hepatitis o ha estado
expuesto a posibles contactos de SIDA-hepatitis en los últimos cuatro meses? | Sí | No |
| 16.- ¿Se ha hecho algún tatuaje, (piercing), agujero en oreja, acupuntura en los últimos cuatro meses? | Sí | No |
| 17.- Si es mujer ¿ha estado embarazada en los últimos seis meses? ¿Está todavía amamantando al niño?, | Sí | No |
| 18.- ¿Ha tenido algún episodio alérgico importante? ¿Sufre de asma? | Sí | No |
| 19.- ¿Ha padecido hepatitis, tuberculosis, fiebre de malta, toxoplasmosis, sífilis o gonorrea? | Sí | No |
| 20.- ¿Padece o ha padecido cáncer, enfermedad de bronquios o pulmón, enfermedad de riñón o diabetes? | Sí | No |
| 21.- ¿Ha tenido o tiene alguna enfermedad de corazón (infarto, angina de pecho, arritmia) o trombosis? | Sí | No |
| 22.- ¿Ha tenido convulsiones, desmayos o epilepsia? | Sí | No |
| 23.- ¿Le han transfundido sangre en alguna ocasión? | Sí | No |
| 24.- ¿Ha consumido alguna vez drogas, incluido esteroides anabolizantes? | Sí | No |
| 25.- ¿Ha sido tratado con hormonas de crecimiento, o tiene antecedentes de Enf. de Creutzfeldt-Jakob? | Sí | No |
| 26.- ¿Le han trasplantado de algo alguna vez (incluido córnea)? | Sí | No |
| 27.- ¿Le han puesto un injerto de duramadre? | Sí | No |
| 28.- ¿Ha residido usted fuera de España? | Sí | No |
| 29.- ¿Ha viajado usted a zonas palúdicas? | Sí | No |
| 30.- ¿Ha estado el último mes en Madagascar, las islas Seychelle, Islas Mauricio o Isla Reunión | Sí | No |
| 31.- ¿Ha residido en el Reino Unido más de un año acumulativo entre los años 1980 a 1996 inclusive? | Sí | No |
| 32.- ¿Va a realizar en las siguientes doce horas tras la donación alguna actividad laboral de riesgo?
(Usar maquinaria pesada, pilotar, subir a un andamio, grúas, bucear, conducir autobuses, camiones.....) | Sí | No |
| 33.- ¿Ha entendido correctamente las preguntas formuladas en este cuestionario? | Sí | No |

Declaro que he leído y comprendido los motivos que excluyen de la donación de sangre, que éstos no me afectan y que he tenido la oportunidad de aclarar dudas, que me han sido resueltas. Asimismo doy mi consentimiento para efectuar una donación de sangre voluntaria. Si por cualquier circunstancia mi sangre o parte de sus componentes no fueran idóneos para la transfusión, acepto que se puedan utilizar con fines científicos.

Si por cualquier motivo usted piensa que su sangre pudiera no ser completamente segura para ser transfundida, es muy importante que nos lo comunique. Si después de donar tuviera alguna duda sobre la validez de la donación efectuada, debe igualmente notificarlo a la mayor brevedad posible al personal médico del Banco de sangre hospitalario o Centro de Transfusión (91 301 72 00).

ATENDIDO POR

EXTRAÍDO POR

FIRMA DEL DONANTE

Madrid, de de 20__

OBSERVACIONES:

ESTUDIO PARA PREVENIR RIESGOS VASCULARES Y DEL CORAZÓN EN LA POBLACIÓN

El presente estudio es llevado por el Centro de Transfusión de Madrid, que depende de la Consejería de Sanidad de la Comunidad. Su objetivo es determinar la prevalencia de riesgo vascular y del corazón en la población de nuestra Comunidad.

Para ello se realizarán una serie de análisis y medidas antropométricas (perímetro de cintura, altura, peso) en los donantes de sangre, que así lo consientan. Todos los datos obtenidos en el presente estudio serán anónimos, sometidos a la Ley de Protección de Datos (LO 15/99 y LO 13/95) y se manejarán para obtener conclusiones poblacionales.

No obstante, si se encontrara una determinación analítica alterada, se le comunicará. **NO SUPONE NINGÚN ESFUERZO ADICIONAL A LA DONACIÓN DE SANGRE. SOLAMENTE SE LE MEDIRÁ A USTED LA CINTURA Y SE REALIZARÁ LA DETERMINACIÓN DEL COLESTEROL-HDL en una de las muestras ya extraídas con la donación de sangre.**

Le rogamos que, si desea colaborar, rellene el cuestionario y firme el consentimiento.

Firma del donante:

CUESTIONARIO

País y ciudad de nacimiento:

¿Se inyecta insulina alguno de sus padres o hermanos?: Sí ☐ No ☐

¿Ha ganado peso desde que llegó a España? (si procede): Sí ☐ No ☐

¿Cuánto?:

Países y ciudades donde ha vivido en América (si procede):

¿Cuánto tiempo hace que salió de su país? (si procede):

Año de llegada a España (si procede):

¿Habla otra lengua además de español?: Sí ☐ No ☐

¿Cuál?

A RELLENAR POR EL MÉDICO:

1. Perímetro cintura -

Altura -

Peso -

2. Colesterol-HDL -

3. Tensión Arterial -

4. Otros -

Nombre del Facultativo –

Consiento participar en este estudio epidemiológico para “Prevenir Riesgos vasculares y del corazón en la población”, en Madrid a de de

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A

- Abate N, Carulli L, Cabo-Chan A Jr, Chandalia M, Snell PG, Grundy SM (2003) Genetic polymorphism PC-1 K121Q and ethnic susceptibility to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 88:5927-5934
- Abate N, Chandalia M, Satija P, Adams-Huet B, Grundy SM, et al. (2005) ENPP1/PC-1 K121Q polymorphism and genetic susceptibility to type 2 diabetes. *Diabetes* 54: 1207-1213
- Alberti KG, Zimmet PZ (1998) Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. Jul;15(7):539-53
- Alberti KG, Zimmet P, Shaw J (2005) IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome — a new worldwide definition. *Lancet* Sep 24-30; 366 (9491):1059-62
- Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JJ, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr, International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, International Association for the Study of Obesity (2009) Harmonizing the metabolic syndrome: a Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 120:1640-5
- Ahima RS, Flier JS (2000b) Leptin. *Annu Rev Physiol* 62:413-37
- Al Mofleh IA (2008) Severe acute pancreatitis: pathogenetic aspects and prognostic factors. *World J Gastroenterol* 14(5):675-684
- Arnaiz-Villena A, Timon M, Corell A, Perez-Aciego P, Martin-Villa JM, Regueiro JR (1992) Brief report: primary immunodeficiency caused by mutations in the gene encoding the CD3-gamma subunit of the T-lymphocyte receptor. *N Engl J Med* 327:529-533
- Arnaiz-Villena A, Siles N, Moscoso J, Zamora J, Serrano-Vela JJ, Gomez-Casado E et al (2005) Origin of Aymaras from Bolivia and their relationship with other Amerindians according to HLA genes. *Tissue Antigens* 65:379-390
- Arnaiz-Villena A, Gonzalez-Alcos V, Serrano-Vela JJ, Requena R, Barbolla L, Parga-Lozano C, Gómez-Prieto P, Abd-El-Fatah-Khalil S, Moscoso J (2009) HLA genes in Uros from Peru: origin and relationships with other Amerindians and worldwide populations. *Int J Immunogenet* 36:159-167
- Arnaiz-Villena A, Parga-Lozano C, Moreno E, Areces C, Rey D, Gomez-Prieto P (2010) The origin of Amerindians and the peopling of the Americas according to HLA genes: admixture with Asian and Pacific people. *Curr Genomics* 11:103-114
- Arnaiz-Villena A, Fernandez-Honrado M, Areces C, Arribas I, Coca C, Enriquez-de-Salamanca M, Parga-Lozano C, Abd-El-Fatah S, Rey D (2012) Amerindians normalized waist circumference and obesity diagnosis standardized by biochemical and HLA data. *Mol Biol Rep*. Apr;39 (4): 4875-8
- Arnaiz-Villena A, Fernández-Honrado M, Areces C, Enríquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Coca C, Arribas I, Algora M, Rey D (2013a). Amerindians show no association of PPAR-γ2 gene Ala12 allele and obesity: an "unthrifty" variant population genetics. *Mol Biol Rep*. 40(2):1767-74
- Arnaiz-Villena A, Fernández-Honrado M, Rey D, Enríquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Arribas I, Coca C, Algora M, Areces C. (2013b) Amerindians show association to obesity with adiponectin gene SNP45 and SNP276: population genetics of a food intake control and "thrifty" gene. *Mol Biol Rep*. 40(2):1819-26.
- Arnaiz-Villena A, Areces C, Enríquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Marco J, Muñiz E, Fernández-Honrado M, Rey D (2014) Pacific Islanders and Amerindian relatedness according to HLA autosomal genes. *Int. J. Mod. Anthropol*. 7: 44-67
- Arner P, Hoffsted F (1999) Adrenoreceptor genes in human obesity. *J Intern Med* 6: 667-72
- Ayed K, Ayed-Jendoubi S, Sfar I, Labonne MP, Gebuher L (2004) HLA class-I and class-II phenotypic, gene and haplotypic frequencies in Tunisians by using molecular typing data. *Tissue Antigens* 64:520-532

B

- Balkau B, Charles MA (1999) Comment on the provisional report from the WHO consultation.

- European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med.* May;16(5):442-3
 - Barbosa PJ, Lessa I, de Almeida FN, Magalhaes LB, Araujo J (2006) Criteria for central obesity in a Brazilian population: impact on metabolic syndrome. *Arq Bras Cardiol* 87:407-414
 - Bašić M, Butorac A, Landeka Jurčević I, Bačun-Družina V (2012) Obesity: genome and environment interactions. *Arh Hig Rada Toksikol* Sep;63(3):395-405.
 - Beales PL, Farooqi IS, O'Rahilly S (2009) *Genetics of obesity syndromes*. Oxford University Press, New York
 - Beebe-Dimmer JL, Zuhlke KA, Ray AM, Lange EM, Cooney KA (2010) Genetic variation in adiponectin (ADIPOQ) and the type 1 receptor (ADIPOR1), obesity and prostate cancer in African Americans. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 13:362-368
 - Berghorn D, Hattstein M (2007) Essential visual history of the world. *Peter Delius Verlag GmbH & Co KG*, Berlin
 - Bouchard C, Perisse L, Rice T, Rao DC (2004) Genetics of human obesity. In: Bray GA, Bouchard C (eds) *Handbook of obesity, 2nd edn*. Marcel Dekker Inc., New York, pp 157-200
 - Burke GL, Bertoni AG, Shea S, et al. (2008) The impact of obesity on cardiovascular disease risk factors and subclinical vascular disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Arch Intern Med* 168(9):928-935
 - Bhutani S, Klempel MC, Berger RA, Varady KA (2010) Improvements in coronary heart disease risk indicators by alternate-day fasting involve adipose tissue modulations. *Obesity* (Silver Spring) 18:2152-2159
- C**
- Caballero B (2007) The global epidemic of obesity: an overview. *Epidemiol Rev* 29:1-5
 - Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. (2003) Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 348(17):1625-1638
 - Cameron AJ, Zimmet PZ, Shaw JE, Alberti KG (2009) The metabolic syndrome: in need of a global mission statement. *Diabet Med* 26:306-309
 - Campillo Álvarez JE (2006) El Mono Obeso
 - Cannon B & Nedergaard J (2004) Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 84:277-359
 - Carobbio S, Rosen B, Vidal-Puig A (2013) Adipogenesis: new insights into brown adipose tissue differentiation. *J Mol Endocrinol.* 2013; 51:T75-T85
 - Comunidad de Madrid. Población Extranjera en Junio 2012.
<http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-Disposition&blobheadervalue1=filename%3DAvance+Informe+de+Poblaci%C3%B3n+Extranjera+C.M.+Junio+2012+.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1311084226622&ssbinary=true>
- CH**
- Chakravarthy MV and Booth Fk W (2004) Eating, exercise, and "thrifty" genotypes: connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. *J Appl Physiol* 96(1): 3-10
 - Chimpanzee sequencing and analysis consortium (2005) Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome. (<http://www.genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway?db=panTro2>). *Nature* 437:69-87
- D**
- Davies SM, Shu XO, Blazar BR, Filipovich AH, Kersev JH, Krivit W, McCullough J, Miller WJ, Ramsay NK et al (1995) Unrelated donor bone marrow transplantation: influence of HLA A and B incompatibility on outcome. *Blood* 86:1636-1642
 - Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (World Medical Association) (1964) Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos (Helsinki, Finlandia, Junio) y enmiendas de las asambleas posteriore sucesivas. Última asamblea: Corea, Octubre 2008
http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/17c_es.pdf
 - De Waele B, Vanmierlo B, Van Nieuwenhove Y, Delvaux G (2006) Impact of body overweight and class I, II and III obesity on the outcome of acute biliary pancreatitis. *Pancreas* 32(4):3 43-345
 - Dobbins F (1993) Disease transfer contact. *Annu Rev Anthropol* 22:273-291
 - Dona H, Maddux BA, Altomonte J, Meseck M, Accili D, Terkeltaub R, Johnson K, Younqren JF, Goldfine (2005) Increased hepatic levels of the insulin receptor inhibitor, PC-1/NPP1, induce insulin

- resistance and glucose intolerance. *Diabetes*. 54(2):367-72
- Drøvyold WB, Midthjell K, Nilsen TI, Holmen J (2005) Change in body mass index and its impact on blood pressure: a prospective population study. *Int J Obes (Land)* 29(6):650-655
- Dunne C, Crowley J, Hagan R, Rooney G, Lawlor E (2008) HLA-A, B, Cw, DRB1, DQB1 and DPB1 alleles and haplotypes in the genetically homogenous Irish population. *Int J Immunogenet* 35:295-302
- E**
- Eaton SB, Konner M. (1985) Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N Engl J Med* 312:283-9
- Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ (2005) The metabolic syndrome. *Lancet* 365: 1415-28
- Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, Hellman R, Jellinger PS, Kendall D, Krauss RM, Neufeld ND, Petak SM, Rodbard HW, Seibel JA, Smith DA, Wilson PW. (2003) American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract.* 9:237-252
- El Achhab Y, Meyre D, Bouatia-Naji N, Berraho M, Deweirder M, Vatin V et al (2009) Association of the ENPP1 K121Q polymorphism with type 2 diabetes and obesity in the Moroccan population. *Diabetes Metab* 35:37-42
- ENPP1/PC-1 gene ectonucleotide pyrophosphatase /phosphodiesterase 1 [*Homo sapiens* (human)]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=Retrieve&dopt=full_report&list_uids=5167
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. (2001) Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 16;285(19):2486-97
- F**
- Flock MR, Green MH, Kris-Etherton PM (2011) Effects of adiposity on plasma lipid response to reductions in dietary saturated fatty acids and cholesterol. *Adv Nutr* 2:261-274
- Fox CS, Pencina MJ, Wilson PW, Paynter NP, Vasan RS, D' Agostino RB Sr (2008) Lifetime risk of cardiovascular disease among individuals with and without diabetes stratified by obesity status in the Framingham heart study. *Diabetes Care* 31(8):1582-1584
- Fujimoto WY, Jablonski KA, Bray GA, et al. (2007) Diabetes Prevention Program Research Group. Body size and shape changes and the risk of diabetes in the diabetes prevention program. *Diabetes* 56(6):1680-1685
- Cuadernos Fundación BBVA. La población de Madrid. INE y Fundación BBVA. 2007
http://www.fbbva.es/TLFU/dat/32_p_madrid.pdf
- G**
- Gao W (2008) DECODE Study Group. Does the constellation of risk factors with and without abdominal adiposity associate with different cardiovascular mortality risk? *Int J Obes* 32(5):757-762
- Garcia RG, Cifuentes AE, Caballero RS, Sanchez L, Lopez-Jaramillo P (2006) A proposal for an appropriate central obesity diagnosis in Latin American population. *Int J Cardiol* 110:263-264
- Garcia-Ortiz JE, Sandoval-Ramirez L, Rangel-Villalobos H, Maldonado-Torres H, Cox S, Garcia-Sepulveda CA, Figueroa LE, Marsh SG, Little AM, Madrigal JA, Moscoso J, Arnaiz-Villena A, Argüello JR (2006) High-resolution molecular characterization of the HLA class I and class II in the Tarahumara Amerindian population. *Tissue Antigens* 68:135-146
- GenBank
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF067178> y
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF067177>
- Goding JW, Terkeltaub R, Maurice M, Deterre P, Sali A, Belli SI (1998) Ecto-phosphodiesterase/pyrophosphatase of lymphocytes and non-lymphoid cells: structure and function of the PC-1 family. *Immunol Rev* 161:11-26
- Goldfine ID, Maddux BA, Youngren JF, Reaven G, Accili D, Trischitta V, Vigneri R and Frittitta L (2008) The Role of Membrane Glycoprotein Plasma Cell Antigen 1/ Ectonucleotide Pyrophosphatase Phosphodiesterase 1 in the Pathogenesis of Insulin Resistance and Related Abnormalities *Endocrine Reviews* 29: 62-75
- Gonem A (1996) The Encyclopedia of the Peoples of the World. *Jerusalem Publishing House Ltd*, Jerusalem
- Gonzalez-Galarza FF, Christmas S., Middleton, D., Jones, A.R. (2011) Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations. *Nucleic Acids Res* 39 (Database issue): D913-D919.

- Gonzalez-Sanchez JL (2003a) Genética del Síndrome Metabólico. *Tesis Doctoral*. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Farmacia. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II
 - Gonzalez-Sanchez JL, Martinez-Larrad MT, Fernandez-Perez C, Kubaszek A, Laakso M, Serrano-Rios M (2003b) K121Q PC-1 gene polymorphism is not associated with insulin resistance in a Spanish population. *Obes Res* 11:603–605
 - Gouni-Berthold I, Giannakidou E, Faust M, Berthold HK, Krone W (2006) The K121Q polymorphism of the plasma cell glycoprotein-1 gene is not associated with diabetes mellitus type 2 in German Caucasians. *Horm Metab Res* 38:524–529
 - Grarup N, Urhammer SA, Ek J, Albrechtsen A, Glumer C, Borch-Johnsen K et al (2006) Studies of the relationship between the ENPP1 K121Q polymorphism and type 2 diabetes, insulin resistance and obesity in 7,333 Danish white subjects. *Diabetologia* 49:2097–2104
 - Greenberg JH, Turner CG, Zegura SL (1986) The settlement of the Americas: a comparison of the linguistic, dental and genetic evidence. *Curr Anthropol* 27:477–498
 - Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C (2004) Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24:e13–e18
 - Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute (2005) Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement [published corrections appear in *Circulation*. 2005;112(17):e297 and *Circulation*. 2005;112(17):e298]. *Circulation* 112(17):2735–52
 - Grundy SM (2008) Metabolic Syndrome Pandemic. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 28:629–636
- ## H
- Hales CN and Barker JP (1992) "Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis," *Diabetologia* 35(7):595–601
 - Hales CN and Barker DJ (2001) "The thrifty phenotype hypothesis".*Br. Med. Bull* 60: 5–20
- Harris EE, Malyango AA (2005) Evolutionary explanations in medical and health profession courses: are you answering your students' "why" questions? *BMC Medical Education*; 5(1): 16–22
 - Harrison *Principios de Medicina Interna, 18ª edición* (español). Parte 6. Nutrición. Capítulo 77. Biología de la obesidad. Biología de la obesidad: Introducción. Etiología de la obesidad. Síndromes genéticos específicos
 - Harshman LG & Zera AJ (2007) The cost of reproduction: the devil in the details. *Trends Ecol Evol*. Feb;22(2):80–6
 - Horton R, Wilming L, Rand V, Lovering RC, Bruford EA, Khodivar VK, Lush MJ, Povev S, Talbot CC Jr, Wright MW, Wain HM, Trowsdale J, Ziedler A, Beck S (2004) Gene map of the extended human major histocompatibility complex. *Nature Rev. Genet.* 5, 889–899
- ## I
- Ilanne-Parikka P, Eriksson JG, Lindström J, et al. Finnish Diabetes Prevention Study Group (2008) Effect of lifestyle intervention on the occurrence of metabolic syndrome and its components in the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes Care* 31(4):805–807
 - International Diabetes Federation (2005) The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. April 14: http://www.idf.org/webdata/docs/Metac_syndrome_def.pdf (accessed June 10, 2005). http://www.idf.org/webdata/docs/MetS_def_update2006.pdf
 - International Diabetes Federation (2006) The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf
 - Itoh Y, Mizuki N, Shimada T, Azuma F, Itakura M, Kashiwase K et al (2005) High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics* 57:717–729
- ## J
- James WPT (2008) WHO recognition of the global obesity epidemic. *Int J Obes (Lond)* 32Suppl 7:S120–6
 - Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R (2002) Body mass index, waist circumference, and health risk: evidence in support of current National Institutes of Health guidelines. *Arch Intern Med* 162:2074–2079

Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R (2004) Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *Am J Clin Nutr* 79: 379-84

K

Kagawa Y, Yanagisawa Y, Hasegawa K, Suzuki H, Yasuda K, Kudo H, Abe M, Matsuda S, Ishikawa Y, Tsuchiya N et al. (2002) Single nucleotide polymorphisms of thrifty genes for energy metabolism: evolutionary origins and prospects for intervention to prevent obesity-related diseases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 295, 207-222

Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med.* 2011 May 5;9:48.

Kaur J (2014) A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiol Res Pract* . 943162

Keshavarz P, Inoue H, Sakamoto Y, Kunika K, Tanahashi T, Nakamura N et al (2006) No evidence for association of the ENPP1 (PC-1) K121Q variant with risk of type 2 diabetes in a Japanese population. *J Hum Genet* 51:559-566

Klein J, Sato A (2000) The HLA system. First of two parts. *N England J Med* 7;343(10):702-9

Klein S, Burke LE, Bray GA, et al. (2004) American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Clinical implications of obesity with specific focus on cardiovascular disease: a statement for professionals from the American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism: endorsed by the American College of Cardiology Foundation. *Circulation* 110(18):2952-67

Konner M and Eaton SB (2010) Paleolithic nutrition: twenty-five years later. *Nutr Clin Pract* 25 (6):594-602

Kopelman PG (2000) Obesity as a medical problem. *Nature* 404: 635-43

Kurian AK, Cardarelli KM (2007) Racial and ethnic differences in cardiovascular disease risk factors: a systematic review. *Ethn Dis* 17:143-152

Kylin E (1923) Studien ueber das Hypertonie-Hyperglyka "mie-Hyperurika" miesyndrom. *Zentralblatt fuer Innere Medizin* 44: 105-27

L

Lean MEJ, Han TS, Morrison CE (1995) Waist circumference as a measure for indicating need for weight Management. *BMJ* 311:158-61

Liu B, Balkwill A, Spencer E, Beral V (2008) Million Women Study Collaborators. Relationship between body mass index and length of hospital stay for gallbladder disease. *J Public Health (Oxf)* 30 (2):161-166

Lowell BB, Spiegelman BM (2004) Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature.* 404:652-660

M

Maddux BA, Sbraccia P, Kumakura S, Sasson S, Youngren J, Fisher A et al (1995) Membrane glycoprotein PC-1 and insulin resistance in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 373: 448-451

Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WT, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Fernández-Viña M, Geraghty DE, Holdsworth R, Hurley CK, Lau M, Lee KW, Mach B, Maier M, Mayr WR, Müller CR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI, Tiercy JM & Trowsdale J (2010) Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens Apr; 75(4):291-455*

Martínez J, Johnson CD, Sánchez-Payá J, de Madaria E, Robles-Díaz G, Pérez-Mateo M (2006) Obesity is a definitive risk factor of severity and mortality in acute pancreatitis: an updated meta-analysis. *Pancreatology* 6(3):206-209

Martinez-Laso J, Siles N, Moscoso J, Zamora J, Serrano-Vela JJ, Ira-Cachafeiro JJ, Castro MJ, Serrano-Ríos M, Arnaiz-Villena A (2006) Origin of Bolivian Quechua Amerindians: their relationship with other American Indians and Asians according to HLA genes. *Eur J Med Genet* 49:169-85

Matsuoka N, Patki A, Tiwari HK, Allison DB, Johnson SB, Gregersen PK et al (2006) Association of K121Q polymorphism in ENPP1 (PC-1) with BMI in Caucasian and African-American adults. *Int J Obes (Lond)* 30:233-237

McAteer JB, Prudente S, Bacci S, Lyon HN, Hirschhorn JN, Trischitta V et al (2008) The ENPP1 K121Q polymorphism is associated with type 2 diabetes in European populations: evidence from an updated meta-analysis in 42,042 subjects. *Diabetes* 57:1125-1130

Moscoso del Prado Ucelay J (2006) Estudio del complejo principal de histocompatibilidad en los mayas: relaciones con otros amerindios y con el

- poblamiento de América. *Tesis doctoral*. Universidad Complutense de Madrid.
- Moscoso J, Seclen S, Serrano-Vela JI, Villena A, Martinez-Laso J, Zamora J, Moreno A, Ira-Cachafeiro J, Arnaiz-Villena A (2006) HLA genes in Lamas Peruvian-Amazonian Amerindians. *Mol Immunol* 43:1881–1889
- Moscoso J, Crawford MH, Vicario JL, Zlotiutro M, Serrano-Vela J, Reguera R, Arnaiz-Villena A (2008) HLA genes of Aleutian Islanders living between Alaska (USA) and Kamchatka (Russia) suggest a possible southern Siberia origin. *Mol Immunol* 45:1018–1026
- Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH (1999) The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA* 282(16):1523–29
- ## N
- National Institutes of Health. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: the evidence report [published correction appears in *Obes Res*. 1998;6:464]. *Obes Res*. 1998;6(suppl 2):51S–209S.
- Neel JV (1962) Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet* 14:353–62
- Neel JV (1999) The "thrifty genotype" in 1998. *Nutr Rev* 57:S2–S9
- Neel JV (2008) Health and Disease in Unacculturated Amerindian Populations. in *Ciba Foundation Symposium 49 - Health and Disease in Tribal Societies* (eds K. Elliott and J. Whelan). John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK. doi: 10.1002/9780470715406.ch9
- Nomenclature for Factors of the HLA System. <http://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html>
- Nowak J, Mika-Witkowska R, Polak M, Zajko M, Rogatko-Koros M, Graczyk-Pol E et al (2008) Allele and extended haplotype polymorphism of HLA-A, -C, -B, -DRB1 and -DQB1 loci in Polish population and genetic affinities to other populations. *Tissue Antigens* 71:193–205
- ## O
- ## P
- Palou A, Serra F, Bonet ML, Pico C (2000) Obesity: Molecular bases of a multifactorial problem. *Eur J Nutr* 39:127–44
- Papachristou GI, Papachristou DJ, Avula H, Slivka A, Whitcomb DC (2006) Obesity increases the severity of acute pancreatitis: performance of APACHE-O score and correlation with the inflammatory response. *Pancreatology* 2006;6(4):279–285
- Parga-Lozano C, Rey-Medrano D, Gomez-Prieto P, Areces C, Moscoso J, Abd-El-Fatah-Khalil S, Moreno E, Arnaiz-Villena A (2011) HLA genes in Amerindian immigrants to Madrid (Spain): epidemiology and a virtual transplantation waiting list: Amerindians in Madrid (Spain). *Mol Biol Rep* 38:2263–2271
- Perez-Bravo F, Martinez-Laso J, Martin-Villa JM, Moscoso J, Moreno A, Serrano-Vela JI, Zamora J, Asenjo S, Gleisner A, Arnaiz-Villena A (2006) HLA non-class II genes may confer type I diabetes susceptibility in a mapuche (Amerindian) affected family. *Eur J Med Genet* 49:37–41
- Phelan S, Wadden TA, Berkowitz RI, et al. (2007) Impact of weight loss on the metabolic syndrome. *Int J Obes* 31:1442–1448
- Pizzutti A, Frittitta L, Arciolas A, Baratta R, Goldfine ID, Bozzali M, Ercolino T, Scarlato G, Iacoviello L, Vigneri R, Tassi V, Trischitta (1999) A polymorphism (K121Q) of the human glycoprotein PC-1 gene coding region is strongly associated with insulin resistance. *Diabetes* 48(9):1881–4.
- Pi-Sunyer X (2009) The Medical Risks of Obesity. *Postgrad Med*. 121(6): 21–33
- Preiss D, Sattar N (2008) Non-alcoholic fatty liver disease: an overview of prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment considerations. *Clin Sci (Lond)* 115(5):141–150
- Prentice AM, Hennig BJ, Fulford AJ (2008) "Evolutionary origins of the obesity epidemic: natural selection of thrifty genes or genetic drift following predation release?" *Int J Obes (London)* 32 (11):1607–10
- ## R
- Ranjith N, Pegoraro RJ, Shanmugam R (2011) Obesity-associated genetic variants in young Asian Indians with the metabolic syndrome and myocardial infarction. *Cardiovasc J Afr* 22:25–30
- Reaven GM (1988) Banting lecture. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37(12):1595–607
- Rey D, Fernandez-Honrado M, Areces C, Algora M, Abd-El-Fatah S, Enriquez-de-Salamanca M, Coca C, Arribas I, Arnaiz-Villena A (2012). Amerindians show no association of PC-1 gene Gln121 allele and

- obesity: a thrifty gene population genetics. *Mol Biol Rep.* 39(7):7687-7693
- Rey D, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Parga-Lozano C, Abd-El-Fatah S, Fernandez M, Arnaiz-Villena A (2012) Los primeros pobladores de América y sus relaciones con poblaciones del Océano Pacífico según los genes HLA. *Inmunología* 31(3):83-91
- Rey D, Parga-Lozano C, Moscoso J, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Fernández-Honrado M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Alonso-Rubio J, Arnaiz-Villena A (2013) HLA genetic profile of Mapuche (Araucanian) Amerindians from Chile. *Mol Biol Rep.* 40(7):4257-67.
- Rey D, Areces C, Alonso-Rubio J, Enriquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Bendikuz N, Fernández-Honrado M, Barbolla L, Martín-Villa JM, Arnaiz-Villena A (2013) HLA in Georgians (Caucasus) and their relationship with Eastern Mediterraneans. *Mol Biol Rep.* 2013 40(10):5523-30
- Rey D, Amirzargar A, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Marco J, Abd-El-Fatah-Khalil S, Fernández-Honrado M, Muñiz E, Martín-Villa JM, Arnaiz-Villena A (2015) Gorgan (Turkmen in Iran) HLA genetics: transplantation, pharmacogenomics and anthropology. *Immunol Invest.* 44(1):88-100
- S**
- Salzano FM & Bortolini MC (2005) The evolution and genetics of Latin American populations. Cambridge University Press, New York
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- Schneider JE (2004) Energy balance and reproduction. *Physiol. Behav.* 81, 289-317
- Seo HJ, Kim SG, Kwon OJ (2008) The K121Q polymorphism in ENPP1 (PC-1) is not associated with type 2 diabetes or obesity in Korean male workers. *J Korean Med Sci* 23:459-464
- Sellayah D & Sikder D (2013) Feeding the heat on brown fat. *Ann N Y Acad Sci.* 1302:11-23
- Sellayah D, Cagampang FR, Cox RD (2014) On the Evolutionary Origins of Obesity: A New Hypothesis. *Endocrinology* 155(5):1573-88
- Smemo S, Tena JJ, Kyoung-Han Kim, Eric R. Gamazon ER, Sakabe NJ, Gómez-Marín C, Aneas I, Credidio FL, Sobreira DR, Wasserman NF, Lee JH, Puvindran V, Tam D, Shen M, Son JE, Vakili NA, Sung H-K, Naranjo S, Acemel RD, Manzaneres M, Nagy A, Cox NJ, Hui Ch, Gomez-Skarmeta JL & Nóbrega MA. (2014) Obesity-associated variants within *FTO* form long-range functional connections with *IRX3*. *Nature* Mar 20; 507(7492):371-5
- Speakman JR (2007) A novel non-adaptive scenario explaining the genetic pre-disposition to obesity: the "predation release" hypothesis. *CELL Metabolism* 6: 5-11
- Speakman JR (2008) Thrifty genes for obesity, an attractive but flawed idea, and an alternative perspective: the 'drifty gene' hypothesis. *Int J Obes (Lond)*. 32:1611-1617
- Speakman JR (2013) Evolutionary perspectives on the obesity epidemic: adaptive, maladaptive, and neutral viewpoints. *Annu Rev Nutr.* 2013;33:289-317
- Strine TW, Mokdad AH, Dube SR, et al (2008) The association of depression and anxiety with obesity and unhealthy behaviors among community-dwelling US adults. *Gen Hosp Psychiatry* 30(2):127-137
- T**
- Tajer CD (2010) Medicina evolucionista v problemas cardiovasculares. *Rev. Argent. Cardiol.* 78(6), 533-539
- Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M et al (2000) Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24:861-868
- Tanyolac S, Mahley RW, Hodoglugil U, Goldfine ID (2008) Gender differences in the relationship of ENPP1/PC-1 variants to obesity in a Turkish population. *Obesity (Silver Spring)* 16: 2468-2471
- Targher G, Arcaro G (2007) Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 191(2):235-240
- Tatar M, Bartke A, Antebi A (2003) The endocrine regulation of aging by insulin-like signals. *Science.* 2003 Feb 28;299(5611):1346-51
- Trevathan WR, Smith EO, McKenna JJ (2008). *Evolutionary Medicine and Health*. Oxford University Press
- U**
- Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Sjostrom L, Bouchard C (2003) Mutations in the adiponectin gene in lean and obese subjects from the Swedish obese subjects cohort. *Metabolism* 52:881-884
- Unger RH (2003) Minireview: Weapons of Lean Body Mass Destruction: The Role of Ectopic Lipids in the

Metabolic Syndrome. *Endocrinology* 144(12):5159–5165

V

Villarroya F, Vidal-Puig A (2013) Beyond the sympathetic tone: the new brown fat activators. *Cell Metab.* 17:638–643

Vimaleswaran KS, Tachmazidou I, Zhao JH, Hirschhorn JN, Dudbridge F, Loos RJ (2012) Candidate genes for obesity-susceptibility show enriched association within a large genome-wide association study for BMI. *Hum Mol Genet* 21(20):4537–42

von Eckardstein A, Sibling RA (2011) Possible contributions of lipoproteins and cholesterol to the pathogenesis of diabetes mellitus type 2. *Curr Opin Lipidol* 22:26–32

W

Wan C, Zhang T, Wang B, Han Y, Zhang C, Zhang Y et al (2006) Obesity risk associated with the K121Q polymorphism of the glycoprotein PC-1 gene. *Diabetes Obes Metab* 8:703–708

Wang R, Zhou D, Xi B, Ge X, Zhu P, Wang B et al (2011) ENPP1/ PC-1 gene K121Q polymorphism is associated with obesity in European adult populations: evidence from a meta-analysis involving 24 324 subjects. *Biomed Environ Sci* 24:200–206

Wang TJ, Parise H, Levy D, et al. (2004) Obesity and the risk of new-onset atrial fibrillation. *JAMA* 292 (20): 2471–77

Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH (2006) Modifiable lifestyle factors and the metabolic syndrome in older men: Effects of lifestyle changes. *J Am Geriatr Soc* 54(12):1909–14

Wassink AM, Van Der Graaf Y, Soedamah-Muthu SS, Spiering W, Visseren FLJ, Smart Study Group (2008) Metabolic syndrome and incidence of type 2 diabetes in patients with manifest vascular disease. *Diab Vasc Dis Res* 5(2):114–122

Weedon MN, Shields B, Hitman G, Walker M, McCarthy MI, Hattersley AT et al (2006) No evidence of association of ENPP1 variants with type 2 diabetes or obesity in a study of 8,089 U.K. Caucasians. *Diabetes* 55:3175–3179

Wei M, Gaskill SP, Haffner SM, Stern MP (1997) Waist circumference as the best predictor of noninsulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) compared to body mass index, waist/hip ratio and other anthropometric measurements in Mexican Americans—a 7 year prospective study. *Obes Res* 5:16–23

Wells JC (2006) The evolution of human fatness and susceptibility to obesity: an ethological approach. *Biol. Rev.* 81, 183–205

Wells JC (2009a) Ethnic variability in adiposity and cardiovascular risk: the variable disease selection hypothesis. *Int. J. Epidemiol.* 38, 63–71

Wells JC (2009b) Thrift: a guide to thrifty genes, thrifty phenotypes and thrifty norms. *Int. J. Obes.* 33, 1331–1338

Wells JC (2011) An evolutionary perspective on the trans-generational basis of obesity. *Ann. Hum. Biol.* 38, 400–409

Wells JC (2012) The evolution of human adiposity and obesity: where did it all go wrong? *Dis Model Mech* Sep;5(5):595–607

Wilson PW, D'Agostino RB, Sullivan L, Parise H, Kannel WB (2002) Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med* 162(16):1867–72

World Health Organization (WHO) (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic Report of a WHO Consultation (WHO Technical Report Series 894). http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/

World Health Organization (WHO) Global Burden Disease (2004) http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GBD_report_2004update_full.pdf

World Health Organization (WHO) Global Infobase. Estimated Proportional Mortality (2004a) <https://apps.who.int/infobase/Mortality.aspx?l=&Group1=RBTcntyByRg&DDLcntyByRg=ALL&DDLcntyName=999&DDLYear=2004&TextBoxImgName=go>

World Health Organization (WHO) The top 10 causes of death across income groups (2012) <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index3.html>

World Health Organization (WHO) The 10 leading causes of death by country income group (2012) <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index1.html>

World Health Organization. Mathers CD, Bernard C, Iburg KM, Inoue M, Ma Fat D, Shibuya K, Stein C, Tomijima N and Xu H (2008) Global Burden of Disease: data sources, methods and results. Survey Ref #:199998a2. <http://www.who.int/healthinfo/bod/en/index.html>

World Health Organization (WHO) (2008) The global burden of disease: 2004 update. World Health Organization, Geneva

World Health Organization (WHO) (2011) <http://www.who.int/gho/ncd/en/>

World Health Organization (WHO). "The Ten Tops Causes of Dead". (2014a) <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>

World Health Organization (WHO) *Noncommunicable diseases: "Risk factors"* (2014b). <http://apps.who.int/gho/data/node.main.A867?lang=en>

X

Y

Z

Zhao T, Liu Z, Zhang D, Liu Y, Yang Y, Zhou D et al (2011) The ENPP1 K121Q polymorphism is not associated with type 2 diabetes or obesity in the Chinese Han population. *J Hum Genet* 56:12–16

PUBLICACIONES

PUBLICACIONES con el equipo del Dr. A. Arnaiz-Villena

Amerindians normalized waist circumference and obesity diagnosis standardized by biochemical and HLA data. Arnaiz-Villena A, Fernández-Honrado M, Areces C, Arribas I, Coca C, Enriquez-de-Salamanca M, Parga-Lozano C, Abd-El-Fatah S, Rey D. Mol Biol Rep. 2012 Apr;39(4):4875-8.

Amerindians show no association of PC-1 gene Gln121 allele and obesity: a thrifty gene population genetics. Rey D, Fernandez-Honrado M, Areces C, Algora M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Enriquez-de-Salamanca M, Coca C, Arribas I, Arnaiz-Villena A. Mol Biol Rep. 2012 Jul;39(7):7687-93.

Los primeros pobladores de América y sus relaciones con poblaciones del Océano Pacífico según los genes HLA. Rey D, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Parga-Lozano C, Abd-El-Fatah S, Fernandez M, Arnaiz-Villena A. Inmunología 2012, 31(3):83-91.

Amerindians show no association of PPAR- γ 2 gene Ala12 allele and obesity: an "unthrifty" variant population genetics. Arnaiz-Villena A, Fernández-Honrado M, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Coca C, Arribas I, Algora M, Rey D. Mol Biol Rep. 2013 Feb;40(2):1767-74.

Amerindians show association to obesity with adiponectin gene SNP45 and SNP276: population genetics of a food intake control and "thrifty" gene. Arnaiz-Villena A, Fernández-Honrado M, Rey D, Enriquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Arribas I, Coca C, Algora M, Areces C. Mol Biol Rep. 2013 Feb;40(2):1819-26.

HLA-G(*)01:05N null allele in Mayans (Guatemala) and Uros (Titikaka Lake, Peru): evolution and population genetics. Arnaiz-Villena A, Enriquez-de-Salamanca M, Areces C, Alonso-Rubio J, Abd-El-Fatah-Khalil S, Fernandez-Honrado M, Rey D. Hum Immunol. 2013 Apr;74(4):478-82.

HLA genetic profile of Mapuche (Araucanian) Amerindians from Chile. Rey D, Parga-Lozano C, Moscoso J, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Fernández-Honrado M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Alonso-Rubio J, Arnaiz-Villena A. Mol Biol Rep. 2013 Jul;40(7):4257-67.

HLA in Georgians (Caucasus) and their relationship with Eastern Mediterraneans. Rey D, Areces C, Alonso-Rubio J, Enríquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Bendikuze N, Fernández-Honrado M, Barbolla L, Martín-Villa JM, Arnaiz-Villena A. Mol Biol Rep. 2013 Oct;40(10):5523-30.

Mixtec Mexican Amerindians: an HLA alleles study for America peopling, pharmacogenomics and transplantation. Arnaiz-Villena A, Vargas-Alarcón G, Areces C, Enríquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Fernández-Honrado M, Marco J, Martín-Villa JM, Rey D. Immunol Invest. 2014;43(8):738-55.

Pacific Islanders and Amerindian relatedness according to HLA autosomal genes. Arnaiz-Villena A, Areces C, Enríquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Marco J, Muñiz E, Fernández-Honrado M, Rey D. Int. J. Mod. Anthropol. (2014) 7: 44-67.

Gorgan (Turkmen in Iran) HLA genetics: transplantation, pharmacogenomics and anthropology. Rey D, Amirzargar A, Areces C, Enríquez-de-Salamanca M, Marco J, Abd-El-Fatah-Khalil S, Fernández-Honrado M, Muñiz E, Martín-Villa JM, Arnaiz-Villena A. Immunol Invest. 2015;44(1):88-100.

PRESENTACIONES A CONGRESOS:

Poster **El origen de los Amerindios y el poblamiento de América de acuerdo con los genes HLA: flujo genético con asiáticos y habitantes de las islas del Pacífico.**
Arnaiz-Villena A, Parga-Lozano C, Moreno E, Areces C, Fernandez-Honrado M, Rey D.
XXXVI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Inmunología (SEI). Pamplona, España. 2011

Póster **HLA and metabolic parameters that define obesity in Amerindians for the first time.**
Rey D, Fernandez-Honrado M, Areces C, Arribas I, Coca C, Enríquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Parga-Lozano C, Arnaiz-Villena A.
16th International HLA and Immunogenetics Workshop Report Conference, 26th European Immunogenetics and Histocompatibility Conference, 23rd British Society for Histocompatibility and Immunogenetics Conference. Liverpool, United Kingdom, 2012

Amerindians normalized waist circumference and obesity diagnosis standardized by biochemical and HLA data

Antonio Arnaiz-Villena · Mercedes Fernández-Honrado · Cristina Areces ·
Ignacio Arribas · Carmen Coca · Mercedes Enriquez-de-Salamanca ·
Carlos Parga-Lozano · Sedeka Abd-El-Fatah · Diego Rey

Received: 24 June 2011 / Accepted: 2 November 2011
© Springer Science+Business Media B.V. 2011

Abstract Metabolic syndrome (MS) and obesity are principal causes of morbidity all over the World, particularly for their association to cardiovascular risk. Amerindians are often living in countries and remote areas with unavailable sophisticated diagnoses methodologies. However, waist-circumference is a reliable and easy to record parameter of visceral obesity and MS. Waist circumference normal values are not yet established in Amerindians: South Asian and Japanese values have been recommended for Amerindian use. The purpose of this study is to objectively define for the first time the waist circumference measure cut-off points for Amerindians. A total of 303 unrelated Amerindian adults recently immigrated to Madrid were studied; they were healthy, since they were questioned and tested as appropriate for blood donation. Waist-circumference was measured in these voluntary blood donors after written consent. Chosen subjects for study had HLA quasi-specific Amerindian genes and not

gained weight since their relatively short time living in Spain. Amerindians with Type I or II diabetes or family antecedents were removed from the study. The biochemical parameter used to define normality for MS was the reliable serum HDL-cholesterol levels, whose values are diet independent. A Receiver Operating Characteristic analysis was used to compare the predictive validity and to find out the optimal cut-off points of waist circumference normal values. Cut-off points were ≤ 88.5 cm in males and ≤ 82.5 cm in females; these values were close to the median values (88 and 82.2 cm, respectively). Obtained waist circumference values recorded here in normal Amerindians are different to those previously recommended indirectly (those of South Asian/Japanese populations). These parameters may be of great value for American countries health care in order to predict and control MS and its cardiovascular complications. Other countries having a heavy Amerindian immigration (i.e.: USA, Spain) may also benefit for establishing specific Preventive Medicine programs.

A. Arnaiz-Villena (✉) · M. Fernández-Honrado · C. Areces ·
M. Enriquez-de-Salamanca · C. Parga-Lozano ·
S. Abd-El-Fatah · D. Rey
Department of Immunology, Facultad de Medicina,
University Complutense, The Madrid Regional Blood Center,
Madrid, Spain
e-mail: aarnaiz@med.ucm.es
URL: <http://chopo.pntic.mec.es/biolmol/>

Present Address:
A. Arnaiz-Villena
Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina,
The Madrid Regional Blood Center, Universidad Complutense,
Pabellón 5, planta 4. Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid,
Spain

I. Arribas · C. Coca
Department of Biochemistry, Hospital Príncipe de Asturias,
Alcalá de Henares, Madrid, Spain

Keywords Amerindian · Cholesterol · Metabolic syndrome · Obesity · Waist circumference · HLA

Introduction

Central obesity is an important factor in the etiology of Metabolic Syndrome (MS), a pathology highly associated with a risk of type II diabetes mellitus and cardiovascular diseases. The waist circumference measure is an easy-to-measure parameter to identify reliably visceral adiposity, and therefore to detect individuals and populations at risk for obesity and cardiovascular diseases [1]. However, it is known that this criterion cannot be applied uniformly to all

Amerindians show no association of PC-1 gene Gln121 allele and obesity: a thrifty gene population genetics

Diego Rey · Mercedes Fernandez-Honrado · Cristina Areces · Manuel Algora ·
Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil · Mercedes Enriquez-de-Salamanca ·
Carmen Coca · Ignacio Arribas · Antonio Arnaiz-Villena

Received: 25 December 2011 / Accepted: 2 February 2012
© Springer Science+Business Media B.V. 2012

Abstract PC-1 Gln121 gene is a risk factor for type 2 diabetes, obesity and insulin resistance in European/American Caucasoids and Orientals. We have aimed to correlate for the first time this gene in Amerindians with obesity and their corresponding individuals genotypes with obesity in order to establish preventive medicine programs for this population and also studying the evolution of gene frequencies in world populations. Central obesity was diagnosed by waist circumference perimeter and food intake independent HDL-cholesterol plasma levels were measured. HLA genes were determined in order to more objectively ascertain participants Amerindians origin. 321 Amerindian blood donors who were healthy according to the blood donating parameters were studied. No association was found between PC-1 Gln121 variant and obesity. Significant HDL-cholesterol lower values were found in the PC-1 Lys121 bearing gene individuals versus PC-1 Gln121 bearing gene ones (45.1 ± 12.7 vs. 48.7 ± 15.2 mg/dl, $p < 0.05$).

Population analyses showed a world geographical gradient in the PC-1 Gln121 allele frequency: around 9% in Orientals, 15% in European Caucasoids and 76% in Negroids. The conclusions are: (1) No association of PC-1 Gln121 gene is found with obesity in Amerindians when association is well established in Europeans. (2) PC-1 Gln121 gene is associated to higher levels of HDL-cholesterol than the alternative PC-1 Lys121 allele. This may be specific for Amerindians. (3) Amerindians have an intermediate frequency of this possible PC-1 Gln121 thrifty gene when compared with Negroid African Americans (78.5%) or Han Chinese (7.5%, $p < 0.0001$). Historical details of African and other groups may support the hypothesis that PC-1 Gln121 is indeed a thrifty gene.

Keywords Obesity · PC-1 · *ENPP1* · Amerindians · Thrifty genes · Population genetics · Metabolic syndrome · Cholesterol · HLA

Diego Rey and Mercedes Fernandez-Honrado contributed equally for this work and the order of authorship is arbitrary.

D. Rey · C. Areces · M. Enriquez-de-Salamanca ·
A. Arnaiz-Villena (✉)
Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina,
The Madrid Regional Blood Center, University Complutense,
Pabellón 5, planta 4. Avda. Complutense s/n,
28040 Madrid, Spain
e-mail: aarnaiz@med.ucm.es
URL: <http://chopo.pntic.mec.es/biolmol/>

M. Fernandez-Honrado · M. Algora · S. Abd-El-Fatah-Khalil
Department of Haematology, The Madrid Regional Blood
Center, Madrid, Spain

C. Coca · I. Arribas
Department of Biochemistry, Hospital Príncipe de Asturias,
Alcalá de Henares, Madrid, Spain

Introduction

The metabolic syndrome (MS) has been recently defined like a polygenic disorder that includes visceral obesity, dyslipidaemia, hyperglycaemia and hypertension [1]. It is strongly related with both type 2 diabetes (T2D) and cardiovascular risk factors [2]. Central obesity seems to be the MS initiating principal factor, although some authors put forward data suggesting that insulin resistance is more important as an starting status [1, 2]. However central obesity is T2D independent [3] and a straightforward detection is necessary (i.e.: waist circumference measurement) [1] because of its higher prevalence among populations, which at present include not only First World ones, but also Africans, Latin Americans and Pacific Islanders [4].

Amerindians show association to obesity with *adiponectin* gene SNP45 and SNP276: population genetics of a food intake control and “thrifty” gene

Antonio Arnaiz-Villena · Mercedes Fernández-Honrado · Diego Rey · Mercedes Enríquez-de-Salamanca · Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil · Ignacio Arribas · Carmen Coca · Manuel Algora · Cristina Areces

Received: 9 August 2012 / Accepted: 10 October 2012
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2012

Abstract *Adiponectin* gene polymorphisms SNP45 and SNP276 have been related to metabolic syndrome (MS) and related pathologies, including obesity. However results of associations are contradictory depending on which population is studied. In the present study, these *adiponectin* SNPs are for the first time studied in Amerindians. Allele frequencies are obtained and comparison with obesity and other MS related parameters are performed. Amerindians were also defined by characteristic *HLA* genes. Our main results are: (1) SNP276 T is associated to low diastolic blood pressure in Amerindians, (2) SNP45 G allele is correlated with obesity in female but not in male Amerindians, (3) SNP45/SNP276 T/G haplotype in total obese/non-obese subjects tends to show a linkage with non-obese Amerindians, (4) SNP45/SNP276 T/T haplotype is linked to obese Amerindian males. Also, a world population study is carried out finding that SNP45 T and SNP276 T alleles are the most frequent in African Blacks and are found significantly in lower frequencies in Europeans and Asians. This together

with the fact that there is a linkage of this haplotype to obese Amerindian males suggest that evolutionary forces related to famine (or population density in relation with available food) may have shaped world population *adiponectin* polymorphism frequencies.

Keywords *Acrp30* · *ADIPOQ* · *Adiponectin* SNP45 · *Adiponectin* SNP276 · Amerindians · APM1 · Diabetes · *HLA* · Hypertension · Metabolic syndrome · Obesity · Population genetics · rs1501299 · rs2241766 · Thrifty genes

Introduction

Adiponectin, also named *Acrp30* (adipocyte complement related protein of 30 kDa), is an hormone mainly synthesized by white adipose tissue and in lesser amounts by brown adipose tissue [1, 2]. It is found in plasma, but also in many other tissues: muscle, salivary glands, cardiac tissue, placenta, liver and colon [3]. Its plasma concentration is inversely proportional to the amount of abdominal obesity [3]. *Adiponectin* has in addition to a lipid metabolism function (metabolic syndrome, insulin resistance), an anti-inflammatory and anti-atherogenic one [4]. *Adiponectin* finally acts upon nervous system modulating food intake and energy expenditure [5].

Metabolic syndrome (MS) [6] and particularly obesity have been related to PC-1 variants in several populations but not in others [7, 8]; also, PPAR- γ variants and *adiponectin* variants [9–11]. “Globesity” epidemic is nowadays the first cause of morbidity and mortality worldwide [12, 13]. *Adiponectin* gene (*ADIPOQ* or *APM1*) is located in chromosome 3q27 [14] and several single nucleotide polymorphisms (SNPs) have been reported for this gene.

Antonio Arnaiz-Villena and Mercedes Fernández-Honrado contributed equally and the order of authorship arbitrary.

A. Arnaiz-Villena (✉) · D. Rey · M. Enríquez-de-Salamanca · C. Areces
Department of Immunology, The Madrid Regional Blood Center, Facultad de Medicina, University Complutense, Pabellón 5, planta 4. Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain
e-mail: aarnaiz@med.ucm.es
URL: <http://chopo.pntic.mec.es/biolmol/>

M. Fernández-Honrado · S. Abd-El-Fatah-Khalil · M. Algora
Department of Haematology, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

I. Arribas · C. Coca
Department of Biochemistry, Hospital Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares, Madrid, Spain

Amerindians show no association of *PPAR- γ 2* gene Ala12 allele and obesity: an “unthrifty” variant population genetics

Antonio Arnaiz-Villena · Mercedes Fernández-Honrado · Cristina Areces · Mercedes Enríquez-de-Salamanca · Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil · Carmen Coca · Ignacio Arribas · Manuel Algora · Diego Rey

Received: 2 August 2012 / Accepted: 10 October 2012
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2012

Abstract Obesity is for many scholars the most important starting status that gives rise to Metabolic Syndrome (MS) and Type 2 Diabetes (T2D). In the present paper, a genetically homogeneous Amerindian population, as defined by HLA genes, has been genotyped for one of the MS and T2D predisposing genes: *PPAR- γ* Ala12 and Pro 12 variants. Ala12 has been negatively associated with obesity, but other authors do not find such an association. Notwithstanding, a meta-analysis that used many subjects clearly demonstrated that *PPAR- γ* Ala12 bearing ones had a reduced risk for T2D. Our results show that Amerindians do not have association of *PPAR- γ 2* Ala12 and obesity; the latter was measured by waist circumference values after taken specific Amerindian normal waist parameters. Also, a population genetics study indicates that Pro12 allele was the wild allele, which must have occurred before modern humans left Africa. Ala12 may

have appeared in Caucasoids later on, according to our comparisons. Negroids tend to show low or null Ala 12 allele frequencies, while most other populations have a significant frequency, particularly European Caucasoids. This may suggest that appearance of Ala12 allele occurred after populations adapted to an agricultural feeding.

Keywords Amerindians · Diabetes · *HLA* · Hypertension · Metabolic Syndrome · Obesity · Population Genetics · *PPAR- γ* Pro12Ala polymorphism · Thrifty genes

Introduction

The metabolic syndrome (MS) has been recently defined like a polygenic disorder that includes visceral obesity, dyslipidaemia, hyperglycaemia and hypertension [1]. It is strongly related with both type 2 diabetes (T2D) and cardiovascular risk factors [2]. Central obesity seems to be the MS initiating principal factor, although some authors put forward data suggesting that insulin resistance is more important as a starting status [1, 2]. However central obesity is T2D independent [3] and a straightforward detection is necessary (i.e.: waist circumference (WC) measurement) [1] because of its higher prevalence among populations, which at present include not only First World ones, but also Africans, Latin Americans and Pacific Islanders [4].

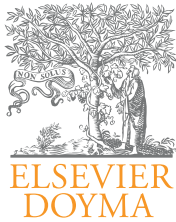
On the other hand, a set of gene variants have been found to be linked to MS components [5, 6] in close interaction with environment. *PPAR- γ* gene (Peroxisome proliferator-activated receptor γ) Pro12Ala SNP from exon 4 which is in contact with gene promoters/ligands in many tissues. The *PPAR- γ 2* isoform is only present in adipose tissue [6]. It is a nuclear hormone receptor which regulates

The contribution of Antonio Arnaiz-Villena and Mercedes Fernández-Honrado is equivalent and the order of authorship arbitrary.

A. Arnaiz-Villena (✉) · C. Areces · M. Enríquez-de-Salamanca · D. Rey
Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina,
The Madrid Regional Blood Center, University Complutense,
Pabellón 5, Planta 4. Avda. Complutense s/n,
28040 Madrid, Spain
e-mail: aarnaiz@med.ucm.es
URL: <http://chopo.pntic.mec.es/biolmol/>

M. Fernández-Honrado · S. Abd-El-Fatah-Khalil · M. Algora
Department of Haematology, The Madrid Regional Blood
Center, Madrid, Spain

C. Coca · I. Arribas
Department of Biochemistry, Hospital Príncipe de Asturias,
Alcalá de Henares, Madrid, Spain



Inmunología

www.elsevier.es/inmunologia



Revisión

Los primeros pobladores de América y sus relaciones con poblaciones del Océano Pacífico según los genes HLA

Diego Rey^a, Cristina Areces^a, Mercedes Enríquez-de-Salamanca^a, Carlos Parga-Lozano^a, Sedeka Abd-El-Fatah^b, Mercedes Fernández^b y Antonio Arnaiz-Villena^{a,*}

^a Departamento de Inmunología, Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid, Universidad Complutense, Madrid, España

^b Departamento de Hematología, Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 3 de junio de 2011

Aceptado el 23 de diciembre de 2011

On-line el 21 de marzo de 2012

Palabras clave:

Aleutianos

Atabascos

Amerindios

Esquimales

HLA

Poblamiento de América

R E S U M E N

Se han comparado las frecuencias alélicas de HLA de amerindios con las de otros primeros habitantes americanos y también con otras poblaciones del mundo, con el objetivo de esclarecer el discutido poblamiento de América y el origen de los amerindios. Se han utilizado todos los datos disponibles de HLA de las primeras poblaciones nativas americanas. Se utilizaron métodos para medir distancias genéticas y dendrogramas Neighbour-Joining (NJ). Los resultados y su discusión han originado las siguientes conclusiones: 1) los atabascos del noroeste canadiense muestran flujo génico con poblaciones vecinas, con amerindios, con habitantes de las islas del Pacífico, incluyendo australianos orientales, y con siberianos, ya que comparten haplotipos DRB1-DQB1 con estas poblaciones (por ejemplo: DRB1*14:01-DQB1*05:03, DRB1*09:01-DQB1*03:03); 2) la entrada de los amerindios en América pudo haber sido diferente a la de atabascos, aleutianos y esquimales; los amerindios pudieron haber llegado al continente mucho antes que los atabascos y esquimales ya que presentan un conjunto completamente diferente de frecuencias alélicas HLA-DRB1; 3) los amerindios muestran muy pocos alelos estrictamente particulares (DRB1*04:11, DRB1*04:17), pero presentan haplotipos extendidos únicos (por ejemplo: A*02-B*35-DRB1*04:07-DQB1*03:02, A*02-B*35-DRB1*08:02-DQB1*04:02); 4) nuestros resultados no apoyan el modelo clásico de poblamiento del continente de las tres oleadas migratorias, sino otro en el que la entrada pudo ser también por la costa pacífica. La llegada de gentes por el Océano Pacífico ha podido contribuir al perfil genético HLA americano. La migración inversa (de América a Asia) de gentes en diferentes épocas no se puede descartar.

© 2011 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: aarnaiz@med.ucm.es (A. Arnaiz-Villena).



HLA-G*01:05N null allele in Mayans (Guatemala) and Uros (Titikaka Lake, Peru): Evolution and population genetics

Antonio Arnaiz-Villena^{a,*}, Mercedes Enriquez-de-Salamanca^a, Cristina Areces^a, Javier Alonso-Rubio^a, Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil^b, Mercedes Fernandez-Honrado^b, Diego Rey^a

^a Department of Immunology, University Complutense, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

^b Department of Haematology, The Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 September 2012

Accepted 7 December 2012

Available online 20 December 2012

ABSTRACT

HLA-G molecules seem to have a protective effect for the semi-allogeneic fetus by mother immunosuppression. Also, pregnancy pathologies have been associated to HLA-G*01:05N “null allele”. In addition, other general regulatory immune functions have been associated to HLA-G in infections, tumors and autoimmunity. Thus, it is striking that HLA*01:05N allele is maintained in a substantial frequency in certain human populations. In the present work, we have analysed HLA-G allele frequencies in Amerindian Mayans from Guatemala and in Uros from Titikaka Lake “totora” (reed) floating islands (Peru). No HLA-G*01:05N has been found in both of these Amerindian populations. Further studies in Worldwide populations show that the highest HLA-G*01:05 allele frequencies are found in Middle East; these findings have a bearing in future clinical/epidemiological studies in Amerindians. This would suggest that either this area was close to the “null” allele origin (as predicted by us) and/or some evolutive pressures are maintaining these high frequencies in Middle East. However, the fact that Cercopithecinae primate family (primates postulated as distant human ancestors) has also a MHC-G “null” allele in all individuals suggests that this allele may confer some advantage either at maternal/fetal interface or at other immune HLA-G function level (tumors, infections, autoimmunity). Human HLA-G*01:05N may produce HLA-G isoforms, like Cercopithecinae monkeys may, which may suffice for function.

© 2013 American Society for Histocompatibility and Immunogenetics. Published by Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

HLA-G is an immunosuppressive protein that is expressed in placental cytotrophoblast and has a role in semi-allogenic fetal acceptance [1,2]. In addition, a more general immunosuppressive regulatory function, in primates, including humans, is also postulated for MHC-G through interactions with NK, T and B lymphocytes and antigen presenting cells [1,2]. Thus, HLA-G is crucial for maintaining the human being species by avoiding fetal rejection, like a semi-allogenic graft [1,2], and it is puzzling that the existence of “null” allele HLA-G*01:05N (first described in Spaniards, [3]) is being maintained throughout time in World populations [4]. Even more puzzling is that further studies in a big family has shown that homozygous HLA-G*01:05N females can give birth and HLA-G*01:05N individuals are born without problems and do not show at 30–40 years old any symptom of immunodeficiency, autoimmunity or tumor pathology [5]. It is possible

that homozygous individuals still express the $\alpha 1$ protein domain both as membrane bound and as a soluble isoform. Furthermore, it has been demonstrated that other HLA-G isoforms may be found in these homozygous individuals [6].

The finding of soluble HLA-G in man ejaculates in variable quantities depending on the subject and also the use of HLA-G early appearance in “*in vitro*” fertilization as a sign of success [4] makes feasible that HLA-G may also have a role in fertilization and fetal implantation. HLA-G*01:05N “null” allele may reduce HLA-G expression in heterozygous individuals and somewhat hindering both egg fertilization/implantation and pregnancy [7,8]. Thus, “null” HLA-G allele might also have a pregnancy control role under certain circumstances.

In order to a precise view of HLA-G*01:05N allele throughout different World populations, a comparison of its different population frequencies is necessary with habitats and other population circumstances, like nutrition condition now and in the past. HLA-G*01:05N allele frequencies vary according to different populations [3]. In the present work, we have aimed to study HLA-G and HLA-G*01:05N frequencies in relatively isolated Amerindian populations: (1) Mesoamerican Guatemalan Mayans [9] and (2) South American Andean Uros, who are probable the first Titikaka

* Corresponding author. Address: Departamento de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Pabellón 5, planta 4, Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain. Fax +34 913 017228.

E-mail address: aarnaiz@med.ucm.es (A. Arnaiz-Villena).

HLA genetic profile of Mapuche (Araucanian) Amerindians from Chile

Diego Rey · Carlos Parga-Lozano · Juan Moscoso · Cristina Areces · Mercedes Enriquez-de-Salamanca · Mercedes Fernández-Honrado · Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil · Javier Alonso-Rubio · Antonio Arnaiz-Villena

Received: 17 January 2013 / Accepted: 27 April 2013
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

Abstract Amerindian Mapuche (Araucanians) are now living in Chile and Argentina at both sides of Andean Mountains. They are anthropologically and genetically different from southernmost South America Patagonian Amerindians. Most of the HLA alleles found in our Mapuche sample are frequent or very frequent in North and South America Amerindians: (1) Class I: A*02:01, A*03:01, A*68:01, B*39:09, B*51:01, (2) Class II: DRB1*03:01, DRB1*04:03, DRB1*07:01, DRB1*08:02, DRB1*14:02, DRB1*16:02. One of the nine most frequent extended haplotypes seems to be from European origin, suggesting the existence of a degree of admixture with Europeans in our Mapuche sample. It has been calculated of about 11 % admixture. Three of the extended haplotypes are also found in other Amerindians and five of them are newly found in Mapuche Amerindians: A*68:01-B*39:09-DRB1*08:02-DQB1*04:02; A*68:01-B*51:01-DRB1*04:03-DQB1*03:02; A*29:01-B*08:01-DRB1*03:01-DQB1*02:01; A*02:01-B*15:01-DRB1*04:03-DQB1*03:02; A*33:01-B*14:02-DRB1*07:01-DQB1*03:03. The medical importance of calculating HLA profile is discussed on the

diagnostic (HLA and disease) and therapeutical bases of HLA pharmacogenomics and on the construction of a virtual transplantation HLA list profile. Also, anthropological conclusions are drawn.

Keywords Amerindians · Mapuche · HLA · Pharmacogenomics · Transplantation · Anthropology

Introduction

The First Amerindian Natives are postulated to have come from Asia through the Bering land bridge between 30,000–12,000 years before the present (BP). These conclusions have been based on cultural, morphological and genetic similarities between American and Asian populations. Both Siberia [1] and Mongolia [2, 3] have been put forward as the most likely places of origin in Asia.

Greenberg first postulated the triple migration theory for explaining the peopling of the Americas [4]: Amerindians (most North and South American Indians; 12,000 years BP), Na-Dene (Athabascans, Navajo, Apache; 8,000 years BP) and Eskimo-Aleuts (6,000 years BP). Research carried out before the widespread use of Y Chromosome (Y Chr) and other nuclear DNA markers including mitochondrial DNA (mtDNA) [5] for the study of populations [6, 7] supported the three-wave model. However, other mtDNA studies have not [8, 9]; other authors postulate only one wave coming from Mongolia/North China as giving rise to the First Native American ancestors [2, 3]. The study of Y Chr DNA markers seemed to suggest the existence of a single major paternal haplotype in both North and South American Native populations [10, 11]. However, other studies on Y Chr show that more than one paternal founder haplotypes arrived in America during different migrations [12], probably from Siberia [13].

Diego Rey and Carlos Parga-Lozano contributed equally for this study and the order of authorship is arbitrary.

D. Rey · C. Parga-Lozano · J. Moscoso · C. Areces · M. Enriquez-de-Salamanca · J. Alonso-Rubio · A. Arnaiz-Villena (✉)

Department of Immunology, School of Medicine, The Madrid Regional Blood Center, University Complutense, Pabellón 5, planta 4. Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain
e-mail: aarnaiz@med.ucm.es
URL: <http://chopo.pntic.mec.es/biolmol/>

M. Fernández-Honrado · S. Abd-El-Fatah-Khalil
Department of Hematology, School of Medicine, The Madrid Regional Blood Center, University Complutense, Pabellón 5, planta 4. Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain

HLA in Georgians (Caucasus) and their relationship with Eastern Mediterraneans

Diego Rey · Cristina Areces · Javier Alonso-Rubio · Mercedes Enríquez-de-Salamanca ·
Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil · Nina Bendikuze · Mercedes Fernández-Honrado ·
Luz Barbolla · José Manuel Martín-Villa · Antonio Arnaiz-Villena

Received: 12 April 2013 / Accepted: 7 August 2013 / Published online: 20 August 2013
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2013

Abstract HLA-A, -B, -DQB1, and -DRB1 typing has been performed in a sample of Georgian population (South Caucasus). Allele frequencies, neighbour joining and correspondence relatedness analyses and extended HLA haplotypes have been obtained with comparison with other Middle East and Mediterranean populations. Our Georgian sample tends to be genetically related in these analyses with Eastern Mediterraneans and Middle East people. This is important for future regional transplant programs, and Georgian HLA and disease epidemiology and pharmacogenomics.

Keywords Caucasians · Georgians · Greeks · HLA · Pharmacogenomics · Population genetics

Introduction

Southern Caucasus Georgian Republic includes South Ossetia and the main Caucasus Pass is placed between

North and South Ossetia. In addition, inside Georgia two Republics there exist: Abkhazia and Adjara. Georgian capital (Tbilisi) has a big number of Chechen and Kurd inhabitants. Eastern Georgia has been named Iberia since antiquity and Black Sea part was identified as Cholchid (The Golden Fleece and Medea mythological placement) [1–4].

Georgia is related with Mesopotamian (Anatolian) history in ancient times [1]. It is believed that Assyrians and Hittites took shelter in Georgia by 1200 BC and mixed with autochthonous Caucasus population [4]. After 730 AD Scythians and Cimmerians coming from North went through Georgia and many people fled to highlands [1]. Later the main Iberian tribes Tibal and Mushki formed Georgian population nucleus, in spite of war with southern tribes coming from ancient Urartu (Armenians). Alexander the Great did not invade Georgia, but Romans did it in 1st century AD after defeating Iberians (Fig. 1) [1, 2]. Romans stayed for 300 years and St. Nino christianized Eastern part, Kartli/Iberia, but not the western Georgian part. Arabs invaded Georgia in 645 AD but left it going with its culture and Christian Orthodox religion. Later Bragations dynasty held power of Eastern Georgia until Russia annexed Georgia in 1801 AD. Several Turks and Iranians invasions have run over Georgia in different times. North and South Ossetians are descents of Alans [4] and speak an Iranian language (Fig. 1). Georgia was independent from Russia between 1918 and 1921. Stalin was born in Gora (Georgia) and brought Georgia under Russia rule [1–4].

The Georgian language is close to the Dene-Caucasian and Basque languages [5–8]. In fact, the Georgians name their country, Georgia, Sakartvelo (in Basque language saka = hollow, art = between and velo = summit), which describes perfectly Georgian orography.

Diego Rey and Cristina Areces contributed equally for this work and the order of authorship is arbitrary.

D. Rey · C. Areces · J. Alonso-Rubio ·
M. Enríquez-de-Salamanca · J. M. Martín-Villa ·
A. Arnaiz-Villena (✉)
Department of Immunology, School of Medicine, Madrid
Regional Blood Center, University Complutense,
28020 Madrid, Spain
e-mail: aarnaiz@med.ucm.es
URL: <http://chopo.pntic.mec.es/biolmol/>

S. Abd-El-Fatah-Khalil · M. Fernández-Honrado · L. Barbolla
Department of Haematology, Madrid Regional Blood Center,
Madrid, Spain

N. Bendikuze
Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech
Republic

Mixtec Mexican Amerindians: an HLA Alleles Study for America Peopling, Pharmacogenomics and Transplantation

Antonio Arnaiz-Villena,¹ Gilberto Vargas-Alarcón,²
Cristina Areces,¹ Mercedes Enríquez-de-Salamanca,¹
Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil,³ Mercedes Fernández-Honrado,³
Javier Marco,¹ José Manuel Martín-Villa,¹ and Diego Rey¹

¹Departament of Immunology, University Complutense, Madrid Regional Blood Center, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain,

²Department of Molecular Biology, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, Mexico City, Mexico, and

³Departament of Haematology, Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

HLA-A, *-B* and *-DRB1* alleles have been studied in a Mixtec Mexican Amerindian population by indirect DNA sequencing. *HLA* relatedness has been tested by comparing results with other Amerindians and worldwide populations; a total of 15,681 chromosomes have been used. Genetic distances between populations, Neighbour Joining (NJ) dendrograms and correspondence analyses have been carried out. Conclusions are: 1) Our Mixtec sample from Oaxaca Coastal Mexican area shows an HLA profile different to that of Oaxaca Central Mountains area showing that genes and languages do not correlate which is inferred both by plane genetic distances and NJ dendrograms and correspondence analyses. 2) Genetic distances and NJ dendrograms join together Mazatecan Mexican Amerindians with our studied Coastal Mixtec group; it fits with the historical relationship between Mixtec and Mazatecans. 3) A*24:02-B*35:14-DRB1*04:11, A*02:01-B*15:15-DRB1*04:11 and A*68:03-B*39:08-DRB1*08:02 extended HLA haplotypes have been “de novo” found in our Mixtec Coastal sample. 4) Shared HLA alleles are found between our Pacific Coast Mixtec Amerindians and Pacific Islanders. 5) These results are useful for establishing a future area transplantation waiting list, for the study of HLA linked diseases epidemiology and for pharmacogenomics in certain drug therapy.

Keywords America Peopling, Amerindian, HLA, Mexican, Mixtec, Pacific Islanders, pharmacogenomics, transplantation

INTRODUCTION

Mixtec is a vague anthropological term since it comprises several ancient Mexican ethnic groups speaking different kind of Mixtecan languages (Ruhlen, 1987). Historically, Mixtec have been settled down in what nowadays are parts of Mexican States of Guerrero, Oaxaca and Puebla (see map, Figure 1). Mixtec

Original Synthesis Report

Pacific Islanders and Amerindian relatedness according to HLA autosomal genes

Antonio Arnaiz-Villena¹, Cristina Areces¹, Mercedes Enríquez-de-Salamanca¹, Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil², Javier Marco¹, Ester Muñoz¹, Mercedes Fernández-Honrado², Manuel Martín Villa¹, Diego Rey¹

Antonio Arnaiz-Villena is presently Head of Department of Microbiology and Immunology at Complutense University, Madrid, Spain. He has been as Research Fellow in the Middlesex Hospital and The London Hospital, London, UK for 9 years. He has published more than 350 papers in international magazines and 8 books in Immunology, Immunogenetics and Human and Bird Population Genetics. He has directed 48 PhD theses.

E-mail: aarnaiz@med.ucm.es. Web page: <http://chopo.pntic.mec.es/biolmol/>

¹Department of Immunology, University Complutense, Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

²Department of Haematology, Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

Abstract - Americas peopling has recently been explained based only on genetic data. While different First America inhabitants' ethnic groups, Amerindians, Na-Dene speakers, Aleuts and Eskimo there exist, there is no either genetic, cultural or anthropological homogeneity within these groups. In the present work, we have particularly addressed the relatedness of First America Inhabitants with Pacific Islanders by using autosomal genetic markers: the HLA alleles. HLA is the most polymorphic human genetic system accounting for 9,438 alleles; this is most useful for comparing populations relatedness. Ethnic groups of Pacific Islanders and First America Inhabitants have been used. A *genealogic* study and also a *frequency comparison* study by using HLA alleles and haplotypes have been carried out. Our conclusions are: 1- Aleuts seem to be a genetic and linguistic separate group which may be related to northern European Lapps, both of them originated in southern Siberia Baikal Lake area. 2- First America Inhabitants, including all analyzed Amerindians, Na-Dene speakers and Eskimo have had genetic flow with Pacific Islanders: the latter share autosomal HLA alleles and haplotypes with First America Inhabitants. This could have been bidirectional. 3- Particularly, Easter Islanders show a probable cultural and genetic exchange with Titikaka Lake Aymaras. This civilisation also shares significant traits with European Iberian megalithic builders. 4- Mesoamericans may be grouped together because of they bear more ancient Olmec culture traits and present paper HLA results. 5- Genetics is not able by itself to uncover in space and time Americas peopling and First America Inhabitants relatedness with Pacific Islanders.

Keywords: Alberite Dolmen, Aleuts, America peopling, Amerindians, Australia, Easter Island, HLA, Lapps, Melanesia, Micronesia, Pacific, Polynesia, Tiwanaku

This work partial results were given at a lecture by Antonio Arnaiz-Villena at The Royal Society (London)- June 9th 2011 “Origin of Amerindians and their genetic relatedness with Asian and Pacific islanders “ (<https://royalsociety.org/events/2011/plagues-pathogens-selection/>) - Sesion 3.

Introduction

The First Amerindian Natives are postulated to have come from Asia through the Bering land bridge between 30,000–12,000 years before the present (BP). These conclusions have been based on cultural, morphological and genetic similarities between American and Asian populations. Both Siberia (Crawford, 1998) and Mongolia (Kolman et al., 1996; Merriwether et al., 1996) have been put forward as the most likely places of origin in Asia.

Greenberg first postulated the triple migration theory for explaining the peopling of the Americas (Greenberg et al., 1986): Amerindians (most North and South American Indians; 12,000 years BP), Na-Dene (Athabaskans, Navajo, Apache; 8,000 years BP) and Eskimo-Aleuts (6,000 years BP). Research carried out before the widespread use of Y Chromosome (Y Chr) and other nuclear DNA markers including mtDNA (Wallace & Torroni, 1992) for the study of populations (Cavalli-Sforza et al., 1994; Parham & Ohta, 1996) supported the three-wave model. However, other mtDNA studies have not (Horai et al., 1993; Torroni et al., 1993); other authors postulate only one wave coming from Mongolia / North China as giving rise to the First Native American ancestors (Kolman et al., 1996; Merriwether et al., 1996). The study of Y Chromosome DNA markers seemed to suggest the existence of a single major paternal haplotype in both North and South American Native populations (Karafet et al., 1997; Santos et al., 1996). However, other studies on Y Chromosome show that more than one paternal founder haplotypes arrived in America during different migrations (Karafet et al., 1999), probably from Siberia (Santos et al., 1999).

Gorgan (Turkmen in Iran) HLA genetics: transplantation, pharmacogenomics and anthropology

Diego Rey,¹ Ali Amirzargar,² Cristina Areces,¹ Mercedes Enríquez-de-Salamanca,¹ Javier Marco,¹ Sedeka Abd-El-Fatah-Khalil,³ Mercedes Fernández-Honrado,³ Ester Muñiz,¹ JoséManuel Martín-Villa,¹ and Antonio Arnaiz-Villena¹

¹Departament of Immunology, University Complutense, School of Medicine, Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain,

²Molecular Immunology Research Center, Medical School, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, and

³Departament of Haematology, Madrid Regional Blood Center, Madrid, Spain

HLA class I and II alleles have been studied in a population from Gorgan (North East Iranian city bordering Turkmenistan). This population is composed of mainly Turkmen who speak Oghuz Turkish language. Comparison of Gorgan people HLA profile has been carried out with about 7984 HLA chromosomes from other worldwide populations; extended haplotypes and three dimension genetic distances have been calculated by using neighbor-joining and correspondence relatedness analyses. Most frequent extended HLA haplotypes show a Siberian/Mediterranean admixture and closest populations are Chuvashians (North Caspian Sea, Russia) and other geographically close populations like Siberian Mansi, Buryats and other Iranians. New extended HLA haplotypes have been found, such as: A*31:01-B*35:01-DRB1*15:01-DQB1*03:01, A*01:01-B*35:01-DRB1*03:01-DQB1*02:01. Relationships of Turkmen with Kurgan (Gorgan) archaeological mounds, Scythians and Sarmatians are discussed. This study is also useful for a future transplantation Gorgan waiting list, Gorgan HLA and disease epidemiology and HLA pharmacogenomics.

Keywords Anthropology, Asian, Gorgan, HLA, Iran, Kurgan, Mediterranean, pharmacogenomics, Turkmen

INTRODUCTION

The HLA system is the most polymorphic genetic system described in humans and consists of several closely linked loci. The strength of the multiallelic HLA system to single out individuals for paternity testing has been shown to be greater than the additive strength of many other polymorphic enzymes and blood group systems. The discovery of new loci and the presently available DNA typing and sequencing of new alleles have dramatically increased the

Curriculum Vitae

MARÍA MERCEDES FERNÁNDEZ HONRADO

DATOS PERSONALES

Nombre **MARIA MERCEDES FERNÁNDEZ HONRADO**
Cualificación profesional **LICENCIADA EN MEDICINA Y CIRUGÍA**
Facultativo Especialista de Área (F.E.A.) en HEMATOLOGÍA-HEMOTERAPIA (vía MIR)

FORMACIÓN Y TÍTULOS ACADÉMICOS

LICENCIATURA EN MEDICINA	UCM 1975
GRADO DE LICENCIATURA	UCM 1975
ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA-HEMOTERAPIA	UAM 1981, vía MIR (certificado INSALUD nº 04.161)
Cursos de DOCTORADO	UAM 1991. 32 créditos
DIPLOMA DE ESTUDIOS AVANZADOS (DEA)	UCM 2011

FORMACIÓN ESPECIALIZADA

HOSPITAL GENERAL DEL INSALUD. Segovia (1976-1981):

- ROTATORIO (1976-77)
- MIR en MEDICINA INTERNA (1977-78)
- MIR en HEMATOLOGÍA-HEMOTERAPIA (1978-81)

con Prórroga Legal y Ampliación de Formación (Cátedra Prof. Dr. Espinós). H. Clínico. Madrid (1981)

ACTIVIDAD PROFESIONAL:

FACULTATIVO ESPECIALISTA DE ÁREA en HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA

INSALUD (interina): **Hospital V. de la SALUD Toledo** (Enero 1982-Diciembre 1983)
Hospital GENERAL Soria (1984 Julio-Diciembre)

SAS (SERVICIO ANDALUZ de SALUD) (interina) **Hospital TORRECÁRDENAS, Almería** (12.02.86-14.12.86)

DIPUTACIÓN ALMERÍA (funcionaria fija) por concurso-oposición. **Hospital DIPUTACIÓN** (15.12.86-31.12.90)

SAS (SERVICIO ANDALUZ de SALUD) (estatutaria fija) por INTEGRACIÓN del Hospital de la Diputación en el **Hospital TORRECÁRDENAS (SAS)** (01.01.1991-15.09.1992). **EXCEDENCIA VOLUNTARIA** (desde 15.09.1992)

CLÍNICA RUBER **Equipo de HEMATOLOGÍA, Dr. Fernández-Rañada. Madrid** (Nov'92-Dic'93)

INSALUD (estatutaria fija) mediante Concurso de TRASLADOS de Personal Estatutario, 1995
Hospital GENERAL, Albacete. EXCEDENCIA VOLUNTARIA (desde 15.04.1997)

_CONSEJERÍA SANIDAD. Madrid (médico interina)
CENTRO DE TRANSFUSIÓN, Madrid. (12.02.1998-24.01.08)

SERVICIO MADRILEÑO DE SALUD (estatutaria fija) por Concurso Reordenación de Personal, 2007 (BOCM. Resol.17.09.2007)
Hospital del HENARES, Coslada (Madrid) (25.01.2008 - 13.02.2013), con funciones de:
Apertura del Servicio de Hematología-Hemoterapia
Responsable y única facultativo del mismo (de Febrero a Mayo, inclusive de 2008)

OTROS CONCURSO-OPOSICIÓN A PLAZAS JERARQUIZADAS II SS SEG.SOCIAL, APROBADOS

- **SAS** 1987 (BOJA: Resolución 11-6-1986) Aprobado y Obtenida plaza. Renuncia a opción elección
- **SAS** 1989 (BOJA: Resolución 22-9-1989) Aprobado y Obtenida plaza. Renuncia a opción elección
- **INSALUD** 1998 Concurso Traslados (BOE: Resolución 02.06.1998) Obtenida plaza. Renuncia a opción elección

ASISTENCIA A CURSOS-CONGRESOS-JORNADAS POR ÁREAS TEMÁTICAS

ÁREAS TEMÁTICAS	Lugar y Fecha de Realización	Créditos	Horas
AVANCES EN HEMATOLOGÍA			
ACTUALIDADES HEMATOLÓGICAS	Academia Ciencias Médicas Cataluña. Barcelona.1987		8
ACTUALIDADES HEMATOLÓGICAS	Academia Ciencias Médicas Cataluña. Barcelona.1988		8
ADVANCES IN HAEMATOLOGY-1988: Specialist Course.	Royal Postgraduate Med.School. Hammersmith Hospital,Londres.1988. BECA	5 días	50
PATOLOGÍA MOLECULAR	Curso Doctorado. Fundación R. Areces. Murcia.1989	2	40
ACTUALIZACIÓN HEMATOLÓGICA	Academia Ciencias Médicas Cataluña. Barcelona.1989		8
II Simposio INTERNACIONALHEMATOLOGÍA	Madrid.1990		8
ADVANCES IN HAEMATOLOGY-1990: Specialist Course	Royal.PostgraduateMedical School. Hammersmith Hospital, Londres.1990	5 días	50
HEMATOLOGÍA: Periodo de Actualización Hospital	12 Octubre. 5º Hematología-Hemoterapia. Dr. Montero. Madrid (01.09.95-29.02.96)	6 meses	
LEUCEMIA AGUDA MIELOBLÁSTICA	European School Oncology. Dr. Besalduch. Palma Mallorca. 1997		12
LINFOMAS	Madrid.1997		15
INMUNOHEMATOLOGÍA EXPERIMENTAL y TERAPIA GÉNICA	CIEMAT. Madrid.1999		14
PROGRESOS EN HEMATOLOGÍA	AEHH. Formación Continuada: icomem. Madrid.(1999-2000)		8
ONCO-HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA	UAM. H. Gral. Univ.NIÑO JESÚS. Dr. Madero .Madrid.2002		50
EPIDEMIOLOGÍA Y NUEVOS FÁRMACOS EN HEMATOLOGÍA	Fundación Leucemia y Linfoma (FLL). Madrid. 2002	0,4	5
SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVOS CRÓNICOS E INTERMEDIOS	CCMC. H. Getafe-Ag.Laín-Entralgo.Madrid. 2005	2,4	
MIELOMA MÚLTIPLE	Consejo Gral. Col. Oficiales Médicos-FMC SNS. Madrid. 2009	1.1	4.5
IV Congreso ASOC. MADRILEÑA HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA	AMHH. Madrid.2009	1.7	12
SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS	Madrid. 2009	1.2	4.4
LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA	Plan Formación Continuada Madrid-SNS. Madrid.2009	0.5	
PROGRAMA EDUCACIONAL. AEHH y SETH	LI Reunión de AEHH y SETH. Barcelona.2009	1	5
TRASPLANTE MÉDULA ÓSEA			
PROBLEMAS ACTUALES y RESULTADO DEL TMO	UIJP. Dr. Fdez-Rañada. Santander.1987		30
BONE MARROW TRANSPLANTATION: Recent Advances	Prof.Goldman The BritishCouncil. Londres. 1988. BECA British Council	5 días	30,5
CITOLOGÍA			
CITOLOGÍA aplicada AL DIAGNÓSTICO HEMATOLÓGICO	UAB. H.Cruz Roja. Dra. Woessner. Barcelona.1988		40
LEUCEMIAS AGUDAS. Revisión y actualización	Club Citología Madrid y Centro (CCMC) H. La Paz. Madrid.2003	3,7	22
BIOPSIA MÉDULA ÓSEA			
BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA	H. Clínico Univ. Dr. Hernández-Nieto. Tenerife.1989. BECA única: AEHH	8	80
TÉCNICAS			
Jornada ACs. MONOCLONALES al Diagnóstico Hematológico	Academia Ciencias Médicas Cataluña. Bcn. 1987		8
Curso ACs. MONOCLONALES al Diagnóstico Hematológico	UAB. H. Clínico. Dra. Matutes. Bcn.1988. BECA comercial		32
CULTIVO IN VITRO aplicado a Hematología	UAB. H.Cruz Roja. Hematología Especializada.. Dra. Woessner. Bcn.1989		40
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA aplicada a Hematología	H. Cruz Roja. Hematología Especializada. Dra. Woessner. Barcelona.1989		40
CITOMETRÍA DE FLUJO	Asoc. Esp. BiopatologíaMédica (AEBM). Madrid.1996		15
Curso AUTOVUE InnoVa KEY OPERATOR	Ortho Clinical Diagnostics. Estrasburgo.2009. BECA Ortho		30
HEMOTERAPIA			
CONTROL DE CALIDAD en BANCO DE SANGRE	UAB. H. Santa Creu i Sant Pau. Dr. Madoz. Barcelona.1986		32
INMUNOLOGÍA DE LA SERIE ROJA	UAB. H. Santa Creu i Sant Pau. Dr.Madoz.Bcn.1987 BECA		32
TRANSFUSION MEDICINE.	Dir: Prof. Dr.Cash/Dr.MacClelland The British Council-Sº Nal. Escocés Transfusión. Edimburgo.1990	15 días	61,5
TOMA DE DECISIONES en la DIRECCIÓN de BANCO DE SANGRE	GEINHE, AEHH. Madrid.1990		16
EQUILIBRIO en USO de COMPONENTES HEMOTERÁPICOS	Fundación Esp. Hem-Hemoterapia(FEHH,AEHH).El Escorial.2000		15
HEMOTERAPIA	Fundación Esp. Hematología-Hemoterapia (FEHH, AEHH). Tarragona.2003	1,7	11
ERITROPATOLOGÍA			
AVANCES EN ERITROPATOLOGÍA	UAB.Curso Doctorado. H. Clínico. Dr Vives-Corróns. Barcelona.1990	2	8
ERITROPATOLOGÍA: Actualización Especialistas H-H(AEHH)	H. Ramón y Cajal. Dra. Fdez Fuertes. Madrid.1991 BECA única AEHH	1 mes	160
VARIANTES de HEMOGLOBINAS y TALASEMIAS en ESPAÑA	HGUGM. Madrid.2002		5

HEMOSTASIA		
International Congress on THROMBOSIS AND HAEMOSTASIS	Bruselas.1987	40
Curso Educativo HEMOSTASIA Y TROMBOSIS	UAB. Grupo Esp. Hemostasia-Trombosis(GEHT, EHH).Barcelona.1988. BECA GETH	20
Curso Educativo HEMOSTASIA Y TROMBOSIS	(GEHT, AEHH). Madrid.1989	19
III Curso Educativo HEMOSTASIA Y TROMBOSIS	(GEHT, AEHH). Bcn.1990	11
ANTICOAGULACIÓN	Formación Continuada: icomem. Madrid. (1999-2000)	4
IV Curso Formación Continuada en TROMBOSIS Y HEMOSTASIA	Soc. Esp. Trombosis y Hemostasia (SETH). Bilbao.2009	2.2 11.75
ONCOLOGÍA		
REGISTROS DE CÁNCER: Métodos y Técnicas de Trabajo	Escuela Andaluza Salud Pública (EASP) Granada.1990. BECASAS	30
BASES de la ONCOLOGÍA CLÍNICA	UAM. Curso Doctorado. Sobresaliente. H. La Paz. Dr. González-Barón. Madrid.1990	10 100
CUIDADOS PALIATIVOS: Atención Integral a Enfermos Terminales(A distancia: ICEPSS).2000		300
RCP - URGENCIAS – CLÍNICA		
REANIMACIÓN CARDIOPULMONAR PEDIÁTRICA	H. Gral. Univ. NIÑO JESÚS. Madrid.2000	30
URGENCIAS MÉDICAS – RCP	MPG. Comisión Formación Continuada. SNS. (teórico-práctico).2001	3.1 30
FORMACIÓN MÉDICA CONTINUADA: CUMPLIMIENTO TERAPÉUTICO EN LA HTA: ARA II VERSUS TERAPIA CLÁSICA	icomem. Madrid	0.7
INCONTINENCIA URINARIA: GENERALIDADES		1.5
INCONTINENCIA URINARIA EN EL VARÓN		0.8
DIAGNOSTICO DEL PACIENTE CON DEMENCIA EN ATENCIÓN PRIMARIA		1.5
CASOS CLÍNICOS	icomem. Madrid. (1999-2000)	1.8
INFECCIONES		
MANEJO DE PACIENTES CON INFECCIÓN VIH	Curso Doctorado. Sobresaliente. H. Princesa. Dr. Noguerado. Madrid.1990	1 10
VII Curso AVANCES EN ANTIBIOTERAPIA	H. Princesa. Sº Microbiología. Dr. López-Brea. Madrid.1994	20
XIII Seminario MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	H. Princesa. Sº Microbiología. Dr. López-Brea. Madrid.1996	10
XIV Seminario MICROBIOLOGÍA CLÍNICA	H. Princesa. Sº Microbiología. Dr. López-Brea. Madrid.1997	10
FORMACIÓN MÉDICA CONTINUADA: ACTUALIZACIÓN EN INFECCIÓN POR VIH-SIDA	H. Carlos III. Madrid. Icomem. Madrid	16
TALLER DE TUBERCULOSIS	SEMFYC	4
PROGRESOS EN DROGODEPENDENCIA	Consejería Sanidad. Madrid- Comisión FMC, SNS	3 20
XIII Curso AVANCES EN ANTIBIOTERAPIA	H. Princesa. Sº Microb. Dr. López-Brea. Madrid.2000	20
RIESGOS BIOLÓGICOS EN LABORATORIOS CLÍNICOS	Escuela Nacional Sanidad (ENS). Madrid.2001	18
RIESGOS de ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA (EEB)	FUNDESFORSA-Formación Continuada. SNS.2002	5.4 100
XVI Curso AVANCES EN ANTIBIOTERAPIA	H. Princesa. Sº Microbiología. Dr. López-Brea. Madrid.2003	20
BIOÉTICA		
ÉTICA ASISTENCIAL	H. Gral. Univ. NIÑO JESÚS. Formación Continuada Madrid.2000	2.6 16
FORMACIÓN CIENTÍFICA		
FORMACIÓN EN ESCRITURA CIENTÍFICA	(EASP). Granada.1991. BECA SAS	30
DISEÑO Y ESTADÍSTICA para INVESTIGACIÓN en CIENCIAS DE LA SALUD:	UAB. Estadística Aplicada. Bcn.1997	
• DISEÑO DE INVESTIGACIONES:	Aprobado	4 200
• PUBLICACIONES: ESCRITURA Y CRÍTICA:	Notable	3 180
ELABORACIÓN Y PUBLICACIÓN DE TRABAJOS en CIENCIAS DE LA SALUD	ENS. Madrid.2001	
ENSAYOS CLÍNICOS		
MONITORIZACIÓN DE ENSAYOS CLÍNICOS	ESAME. Madrid.1999	8
GESTIÓN		
FORMACIÓN MÉDICA CONTINUADA INGENIERÍA DE TOMA DE DECISIONES	icomem. Madrid. (1999-2000)	
INGENIERÍA DE TOMA DE DECISIONES		5
CÓMO CORREGIR ACERTADAMENTE		5
CÓMO HACER PRESENTACIONES		5
TOMA DE DECISIÓN.	Madrid. Plan Formación de Personal.2006	20
GESTIÓN POR PROCESOS	Hospital Univ. del Henares. Coslada. Plan de Formación.2009	2.8 20
CALIDAD		
CALIDAD TOTAL, GESTIÓN y RESPONSABILIDAD PROFESIONAL en LABORATORIO	Toxicología y Legislación Sanitaria. Fac. Med. UCM.1997	40
EFQM (CALIDAD. APLICACIONES)	H. Gral. Univ. NIÑO JESÚS – Agencia Lain Entralgo. CAM.2003	15
LA CALIDAD COMO ELEMENTO DE GESTIÓN	C. A. Madrid. Formación de Personal.2003	20
LA CALIDAD EN LA ATENCIÓN AL CIUDADANO – PACIENTE	C. A. Madrid. Formación de Personal. 2003	20
INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN CUALITATIVA EN SALUD	Agencia Lain-Entralgo. Madrid.2003	4.7 24
SISTEMAS CALIDAD en LABORATORIOS de HEMATOLOGÍA-HEMOTERAPIA	FEHH. Fundación Esp.HH.Bcn.2006	4 16
EFQM: INTRODUCCIÓN AL MODELO.	Hospital del Henares. Plan de Formación.2009	2.8 20

INFORMÁTICA

INFORMÁTICA APLICADA A MEDICINA AEDITA (Asoc. Esp. Difusión Tecnologías Avanzadas) ICOMEM. Madrid.1988	40
INTERNET EN MEDICINA (Proyecto DOSIS 2000). Fac. Medicina. (UCM). Madrid.1997	8
WINDOWS 95-98: WORD, EXCEL, ACCESS, POWERPOINT, INTERNET Academia Kernel. Madrid. 1999	70
ICOMEM Madrid: BÚSQUEDAS BIBLIOGRÁFICAS (1999-2000)	6
INTRODUCCIÓN A FUENTES DE INFORMACIÓN EN BIOMEDICINA	32
WINDOWS Y MICROSOFT WORD	12
POWER POINT	8
WINDOWS 98 y WORD 2000 (2002)	12
WINDOWS 98 y WORD 2000 (2002)	8
INTERNET BÁSICO (2002)	
POWER POINT XP Centro de Formación de Informática y Comunicacionesde CAM (ICM).2004	30
Programa REFWORK. Utilidades para Elaboración Artículos científicos Hospital del Henares. Plan de Formación.2009	0,6 5

IDIOMAS. CERTIFICACIONES Y CURSOS

INGLÉS: FIRST CERTIFICATE: University of Cambridge 1990	
Cursos: CÓMO COMUNICAR EFICAZMENTE EN INGLÉSicomem. Madrid. (1999 y 2000)	5
CÓMO HACER PRESENTACIONES EN INGLÉS	5
COMUNICACIÓN EN INGLÉS POR TELÉFONO Y CARTA	5
FRANCÉS: Lectura	

BECAS Y AYUDAS OBTENIDAS de:

Firma comercial: 3	1987, 88, 88
GEHT de la AEHH (GRUPO ESPAÑOL DE TROMBOSIS Y HEMOSTASIA): 1	1988
DIPUTACIÓN PROVINCIAL de Almería: 1	1988
THE BRITISH COUNCIL: 1	1989
AEHH (ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE HEMATOLOGÍA-HEMOTERAPIA): 2	1989, 1991
SAS (Servicio Andaluz de Salud): 2	1990, 1991
ORTHO CLINICS DIAGNOSTICS: 1	2009

PUBLICACIONES

Incidencia de anticuerpos HIV en una población de reclusos (1988)

Fernández MM, Martínez M, Mendoza J, Rodríguez D, Cueto M, Godoy F.

Comunicación y Poster. III Congreso Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Granada, Mayo 1988. Libro del Congreso. Ref.: 20-17. Pág.256.

Megadosis de quimioterapia con soporte de médula ósea en pacientes con carcinoma de mama. Resultados preliminares en 17 pacientes (1993)

Pérez-Carrión R, Tomás JF, Escudero A, Mendiola C, Lobo F, González-Barón M, Jalón J, Sancho JF, López Pascual J, Cámara C, Solera M, Fernández M, Fernández-Rañada JM. Comunicación. IV Congreso Nacional de Oncología Médica. Madrid. Mayo 1993.

Libro Comunicaciones del congreso. Ref.: O-77. Pág. 235.

Autotrasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el tratamiento del cáncer de mama (1994)

Escudero A, Tomás JF, López Pascual J, Fernández M, López

Lorenzo, Fernández-Rañada JM.

XXXVI Reunión Nacional de la Asociación Española de Hematología y Hemoterapia (AEHH).

Simposio: Trasplante de Médula Ósea en Tumores Sólidos.

SANGRE Vol. 39. Supl 1: 154-156

Anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* pre-donación en oriundos y residentes en Latino-América. Estudio preliminar (2006)

Fernández Honrado, M.
Comunicación y Poster.

XVII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea (SETS).

Palma de Mallorca. Ref.: P-162. Pág. 449.

